

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

DIEGO LIMA NAVA MARTINS

**A REDE PADRÃO DE REPOUSO PARECE PRESERVADA INTRINSECAMENTE
MAS SUA CONECTIVIDADE FUNCIONAL EXTRÍNSECA PODE ESTAR
COMPROMETIDA EM USUÁRIOS DE CRACK-COCAÍNA**

Vitória
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

DIEGO LIMA NAVA MARTINS

**A REDE PADRÃO DE REPOUSO PARECE PRESERVADA INTRINSECAMENTE
MAS SUA CONECTIVIDADE FUNCIONAL EXTRÍNSECA PODE ESTAR
COMPROMETIDA EM USUÁRIOS DE CRACK-COCAÍNA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Medicina.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Ester Miyuki Nakamura-Palacios

Vitória
2016

Martins, Diego Lima Nava

A rede padrão de repouso parece preservada intrinsecamente mas sua conectividade funcional extrínseca pode estar comprometida em usuários de crack-cocaína / Diego Lima Nava Martins. -- 2016.

59 f.

Orientadora: Ester Miyuki Nakamura-Palacios.

Dissertação (Mestrado Profissional em Medicina) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, BR-ES, 2016.

1. Dependência química. 2. Ressonância magnética. 3. Ressonância magnética funcional. 4. Default mode network. I. Nakamura-Palacios, Ester Miyuki, orient. II. Título.

DIEGO LIMA NAVA MARTINS

***A REDE PADRÃO DE REPOUSO PARECE PRESERVADA INTRINSECAMENTE
MAS SUA CONECTIVIDADE FUNCIONAL EXTRÍNSECA PODE ESTAR
COMPROMETIDA EM USUÁRIOS DE CRACK-COCAÍNA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Medicina. Vitória, 17 de junho de 2016.

Orientadora

Dr^a. Ester Miyuki Nakamura-Palacios
Universidade Federal do Espírito Santo

Examinador

Dr. Ricardo Andrade Fernandes de Mello
Universidade Federal do Espírito Santo

Examinador

Dr. Felipe Torres Pacheco
Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Roberto e Tila, que, ensinando-me os princípios da ética, da moral e da honra, são os grandes responsáveis pela construção do ser humano que me tornei. Muito obrigado por toda a luta, esforço e dedicação, por terem abdicado de tantas coisas em prol do meu futuro e do meu irmão. Esta conquista é para vocês, com muito amor. Obrigado!

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus, criador de todas as coisas, razão da minha existência, fonte de todas as minhas alegrias e guia por todos os momentos de dificuldade. Toda honra e glória a Ti, Senhor.

À minha mãe Tila, mulher da minha vida, guerreira que mesmo diante de inúmeras dificuldades, nunca abdicou de tentar me dar o que de melhor tinha a oferecer. Obrigado por tudo, por todo o amor e carinho e por todos os valores que carregarei comigo para sempre.

Ao meu pai Roberto, homem de serenidade e tranquilidade inequívocos. Agradeço por toda a paciência e disponibilidade, e pela força emocional que você me transmite.

Ao meu irmão Vitor, pelo companheirismo e pela ajuda de sempre, que foram fundamentais desde o início da minha formação e que prezarei para o resto da vida.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Ester, grande mentora responsável pela consolidação deste sonho, obrigado pela perseverança, por ter conduzido meus caminhos com tranquilidade e serenidade, sempre zelando pela ética e pelo compromisso para com a ciência.

À minha namorada, pela compreensão em todos os momentos de ausência e de sobrecarga física e emocional, por toda a confiança, amor e carinho.

A todos os meus familiares, que mesmo distantes se fizeram presentes em orações e energias positivas. Em especial aos meus avós, Méropes e Diogo, exemplos de vida que carregarei para sempre comigo.

Aos meus amigos, em especial Luiz Felipe e Laís, que na convivência diária se fizeram fundamentais, muito obrigado pela paciência, cooperação e carinho. Podem sempre contar comigo. E também àqueles distantes, agradeço pelas conversas, visitas e todo o apoio.

Ao Dr. Rodrigo Moll, por proporcionar ambientes favoráveis para que este trabalho pudesse ser realizado.

Aos alunos do curso de engenharia, Talles, Lucas e Julia, meu agradecimento pela extrema ajuda para com a execução do projeto, pois sem ela tudo teria sido ainda mais difícil.

A todos os demais que participaram deste projeto, direta ou indiretamente, incluindo Edson, Jaíza, os acadêmicos do curso de Medicina Rodolpho e Isabella, funcionários do setor de Imagem do HUCAM e também da clínica Mais Medicina Diagnóstica, em especial Aranda.

E, por fim, a todos os pacientes e familiares, que se disponibilizaram a participar do estudo, meu muito obrigado. Vocês são os grandes responsáveis por tudo.

RESUMO

O *Default Mode Network* (DMN) parece estar afetado na dependência química. Conectividade funcional reduzida foi descrita em usuários de psicoestimulantes (cocaína, nicotina e cafeína) e também em dependentes de drogas depressoras (álcool, heroína, opioides de prescrição), porém nenhum estudo investigou a conectividade funcional do DMN em dependentes de crack até então. Neste estudo, usuários de crack em abstinência por no mínimo 4 semanas e pareados por idade com controles não usuários foram submetidos a exames de imagem por Ressonância Magnética funcional adquiridos quando em repouso e com os olhos fechados (rs-fMRI) em aparelhos de 1,5T e 3,0T. Após o pré-processamento dos dados, DMN foram definidos por análise de componentes independentes (*Independent Component Analysis* – ICA) e por análise de correlação *seed based*, por regiões de interesse (ROIs) no Córtex Cingulado Anterior ventral (vACC) e no Córtex Cingulado Posterior (PCC). A conectividade funcional global do DMN não foi diferente entre os usuários de crack e os controles não usuários pareados por idade nos estudos de rs-fMRI adquiridos em ambos os *scanners*. A análise *seed based* evidenciou maior negatividade da conectividade entre o vACC e o lóbulo parietal superior esquerdo quando comparado aos controles pareados por idade ($p < 0,0322$). Não foram encontradas diferenças entre os grupos na conectividade funcional entre o PCC e outras regiões cerebrais. Assim, a conectividade funcional total do DMN analisada por ICA foi encontrada preservada nos dependentes de crack em abstinência. Quando uma análise de correlação *seed based* foi aplicada buscando-se por uma conectividade funcional métrica simples entre regiões cerebrais específicas, uma maior negatividade foi encontrada entre a região frontal medial e a região cerebral posterior, sugerindo que embora o DMN global não esteja afetado uma conectividade funcional seletiva pode estar comprometida na dependência do crack.

Palavras-chave: Cocaína Crack. Dependência. Transtornos Relacionados ao Uso de Substâncias. Imagem por Ressonância Magnética. IRMf.

ABSTRACT

Default Mode Network (DMN) seems to be affected in drug addiction. Decreased functional connectivity has been described in psychostimulants users (cocaine, nicotine, and caffeine) and also in addicted to depressant drugs (alcohol, heroin, prescribed opioids) but no study has investigated the DMN functional connectivity in crack-cocaine dependents so far. Here, inpatient crack-cocaine users in abstinence for at least 4 weeks and age-matched non-addicted controls underwent to functional Magnetic Resonance Imaging acquired when they rested with eyes closed (rs-fMRI) in 1.5 T or 3.0 T scanners. After data preprocessing, DMN were defined by spatial independent component analysis (ICA) and seed-based correlation analysis, by chosen regions of interest centered in the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC) and in the Posterior Cingulate Cortex (PCC). Global DMN functional connectivity was not different between crack-cocaine users and age-matched controls in rs-fMRI acquired in both scanners. The seed-based analysis showed greater negativity of the connectivity between vACC and superior parietal lobe when compared to age-matched controls ($p < 0.0322$). No differences between groups were found in the functional connectivity between PCC and other brain regions. Thus, the total DMN functional connectivity searched by ICA was found preserved in crack-cocaine dependents in abstinence. When a seed-based correlation analysis was applied searching for a single metric functional connectivity between specific brain regions, a greater negativity was found between medial frontal region and the posterior brain region, suggesting that although a broad DMN was unaffected a selective functional connectivity may be compromised in crack-cocaine addiction.

Keywords: Crack-cocaine. Addiction. Substance-Related Disorders. Magnetic Resonance Imaging. fMRI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do estudo.....	23
Figura 2 – Diagrama da análise de dados	29
Figura 3 – <i>Default Mode Network</i> (DMN) definido por Análise de Componentes Independentes (ICA) em dados de rs-fMRI nos aparelhos de 1,5T (A) e 3,0T (B) em usuários de crack e controles não usuários pareados por idade.....	34
Figura 4 - Conectividade funcional determinada pela análise de correlação baseada em ROIs circulares de 8mm de diâmetro (retratados em verde) e o (A) córtex cingulado anterior ventral (vACC: $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) e (B) córtex cingulado posterior (PCC: $x = 2$, $y = -51$, $z = 27$) considerando-se as coordenadas utilizadas por Greicius <i>et al</i> (2003), em dados de rs-fMRI adquiridos em aparelhos de 1,5T em usuários de crack e controles não usuários pareados por idade.....	35
Figura 5 - Correlação negativa do córtex cingulado anterior ventral (vACC: $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) com a área correspondente ao lóbulo parietal superior esquerdo (área de Brodmann 5: $x = -32$, $y = -38$, $z = 60$) em usuários de crack quando comparados ao grupo de controles não usuários pareados por idade.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características sociodemográficas e padrões de uso do crack em uma amostra de usuários masculinos, em abstinência por no mínimo 4 semanas, que foram submetidos a exames de rs-fMRI em aparelhos de 1,5T (n = 8) e 3,0T (n = 5), comparadas a controles não usuários do gênero masculino, pareados por idade, e que também foram submetidos a exames de rs-fMRI em aparelhos de 1,5T (n = 8) e 3,0T (n = 8).....32

Tabela 2 – Regiões com correlação positiva em relação aos ROIs de 8 mm de diâmetro posicionados no córtex cingulado anterior ventral (vACC: x = 2, y = 38, z = -2) e córtex cingulado posterior (PCC: x = 2, y = -51, z = 27), considerando-se as coordenadas utilizadas por Greicius *et al* (2003) em usuários de crack (n = 8) comparados a controles pareados por idade não usuários (n = 8).....36

Tabela 3 - Regiões com correlação negativa em relação aos ROIs de 8 mm de diâmetro posicionados no córtex cingulado anterior ventral (vACC: x = 2, y = 38, z = -2) e córtex cingulado posterior (PCC: x = 2, y = -51, z = 27), considerando-se as coordenadas utilizadas por Greicius *et al* (2003) em usuários de crack (n = 8) comparados a controles pareados por idade não usuários (n = 8).....38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

NAc – Núcleo accumbens

COF – Córtex orbitofrontal

CPF – Córtex pré-frontal

GCA – Giro cingulado anterior

f-MRI – Ressonância Magnética funcional

PET – Tomografia por Emissão de Pósitrons

EEG – Eletroencefalografia

BOLD – Sinal dependente do nível de oxigênio (*Blood oxygen level-dependent signal*)

rs-fMRI – Ressonância Magnética funcional em estado de repouso

RSFC – Conectividade funcional em estado de repouso (*Resting state functional connectivity*)

vmPFC – Córtex pré-frontal ventromedial

DMN – Rede de modo padrão (*Default mode network*)

CID – Classificação Internacional de Doenças

DSM-IV-TR – Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais em sua Quarta Edição – Revisada

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HUCAM – Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

RSN – Redes em estado de repouso (*Resting state networks*)

FMRI – Imagem por ressonância magnética funcional do cérebro (*Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain*)

BET – Ferramenta de extração cerebral (*Brain extraction tool*)

MNT – Padrão neurológico de Montreal (*Montreal Neurological Template*)

ICA – Análise de componentes independentes (*Independent Component Analysis*)

MELODIC – Decomposição linear exploratória multivariada em componentes independentes (*Multivariate Exploratory Linear Decomposition into Independent Components*)

ROI – Região de interesse (*Region of Interest*)

vACC – Córtex cingulado anterior ventral (*ventral Anterior Cingulate Cortex*)

PCC – Córtex cingulado posterior (*Posterior Cingulate Cortex*)

GLM – Modelo linear geral (*General Linear Model*)

CF – Conectividade funcional

TDAH – Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 CRACK-COCAÍNA E DEPENDÊNCIA: UM BREVE HISTÓRICO.....	15
1.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL DE REPOUSO (<i>RESTING-STATE F-MRI</i>) E A REDE PADRÃO DE REPOUSO (<i>DEFAULT MODE NETWORK</i>).....	17
1.3 JUSTIFICATIVA.....	19
1.4 OBJETIVOS.....	20
1.4.1 Objetivo geral	20
1.4.2 Objetivos específicos	20
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
2.1 TRIAGEM E AQUISIÇÃO DOS DADOS DE RM.....	21
2.1.1 Parâmetros técnicos dos exames de RM	24
2.1.1.1 Sequência T1 3D.....	25
2.1.1.2 Resting state f-MRI.....	25
2.2 PROCESSAMENTO DE DADOS.....	26
2.2.1 Análise de componentes independentes (<i>ICA - Independent Component Analysis</i>) e Regressão Dual (<i>Dual Regression</i>)	27
2.2.2 Análise de correlação baseada em regiões de interesse (ROIs ou <i>seed-based analysis</i>)	27
3 RESULTADOS.....	30
3.1 ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E PADRÃO DE USO DA DROGA.....	30
3.2 RESTING STATE FMRI E DEFAULT MODE NETWORK.....	33
3.2.1 Análise de Componentes Independentes (ICA)	33
3.2.2 Análise de correlação <i>seed-based</i>	34

4 DISCUSSÃO.....	39
5 CONCLUSÕES.....	45
6 REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	57
APÊNDICE B – Instrumento de Avaliação Clínica.....	58
ANEXO A – DSM-IV & DSM-IV-TR: Critérios para dependência.....	59
ANEXO B – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).....	60
ANEXO C – Comprovante de submissão do <i>paper</i> na revista <i>Psychiatry Research: Neuroimaging</i>	64

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - CRACK-COCAÍNA E DEPENDÊNCIA: UM BREVE HISTÓRICO

A cocaína é um estimulante do sistema nervoso central extraído das folhas de *Erythroxylum coca*. A coca foi consumida por milhares de anos pelos povos Incas e pré-Colombianos, e a cocaína tornou-se popular na Europa e nos Estados Unidos a partir do século XIX, sendo consumida na forma de tônicos e vinhos. A partir da metade do século XIX e início do século XX, passou-se a consumi-la com fins medicinais e recreativos. Porém, o surgimento de complicações agudas e crônicas decorrentes de seu uso levaram ao banimento da substância da maioria dos mercados ocidentais por volta das décadas de 1910-20¹.

Contudo, a partir das décadas de 1970-80, a cocaína retomou popularidade nas sociedades ocidentais como uma droga “glamourosa”, cujo uso estava de acordo com o estilo de vida das grandes metrópoles. Em menos de 10 anos após, houve a emergência do crack, uma apresentação alcalina, volátil em baixas temperaturas, da cocaína¹.

Antes de 1989, o crack não era identificado nos levantamentos epidemiológicos brasileiros sobre uso de drogas. Em 1993, contudo, o uso em vida chegou a 36% da população, e em 1997, a 46%. Atualmente, no Brasil, sabe-se que cerca de 2% dos estudantes já usaram cocaína ao menos uma vez na vida, e 0,2%, crack². Atualmente, o uso do crack tem se expandido nos países ocidentais³⁻⁹, especialmente devido ao seu custo muito inferior quando comparado à cocaína⁸.

O início do uso do crack vem sendo feito em indivíduos cada vez mais jovens, espalhando-se pelo país e por todos os estratos sociais, tornando-se uma droga de fácil acesso por parte de todas as classes sociais e cujo uso quase sempre é precedido do consumo de álcool e/ou tabaco². Observa-se, inclusive, que crianças de camadas sociais mais baixas da população tem fácil acesso à droga (tanto por

ser muito barata quanto pelo seu uso simples)¹⁰. Além disso, a ocorrência que antes era observada basicamente em uma população de baixa renda e geralmente do sexo masculino^{1,4,11,12}, também tem alcançado indivíduos de alta renda anual e do gênero feminino^{13,14}.

Quando comparada à cocaína, o crack é uma droga muito mais danosa¹⁵⁻¹⁸, não apenas devido aos seus efeitos mais rápidos, mais fortes e de duração mais breve, fazendo com que o usuário busque constantemente pela droga, estabelecendo uma forte dependência^{16,19}, mas também devido à sua maior neurotoxicidade em função dos produtos da pirólise da cocaína^{19,20}.

Na verdade, ainda se está longe de ser completamente esclarecido o modo como o uso repetido de drogas como o crack altera os sistemas de controle cerebrais, e quais sistemas neurais são responsáveis pelo comportamento da dependência²¹. Volkow *et al* propuseram um modelo de quatro circuitos envolvidos no abuso e na dependência: (1) recompensa, localizado no núcleo accumbens (NAc) e pálido ventral; (2) motivação, situado nos córtex orbitofrontal (COF) e subcalosal; (3) memória e aprendizado, na amígdala e hipocampo; e (4) controle, localizado no córtex pré-frontal (CPF) e giro cingulado anterior (GCA)^{22,23}.

É sabido que a dependência da cocaína afeta profundamente a integridade das regiões cognitivas pré-frontais envolvidas no processamento das funções executivas e no controle cognitivo. Assim, indivíduos afetados apresentam dificuldades em exercer controle sobre seu comportamento²⁴. O uso crônico de drogas como a cocaína pode, assim como o álcool, levar a um quadro de déficit nas memórias operacional espacial e de curta duração, na capacidade de atenção e resolução de problemas, na tomada de decisões, no planejamento de ações futuras, na inibição comportamental e no autocontrole²⁵.

1.2 – RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL DE REPOUSO (*RESTING-STATE F-MRI*) E A REDE PADRÃO DE REPOUSO (*DEFAULT MODE NETWORK*)

Embora o cérebro humano corresponda a apenas cerca de 2% do peso corporal, ele consome algo em torno de 20% de todo o oxigênio extraído do ar inalado pelos pulmões. Por tal motivo, déficits de oxigenação cerebral levam a perda da consciência em segundos²⁶⁻²⁸.

Nas últimas décadas, principalmente a partir do final dos anos 90, a neurociência cognitiva tem se preocupado com técnicas de imagem cerebral funcional, para compreender como as funções cerebrais suportam as atividades mentais. Nesse contexto, estudos de imagem por Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) e RM tem sido correlacionados com potenciais obtidos através de eletroencefalografia (EEG) e magnetoencefalografia²⁶⁻²⁸.

O PET utiliza-se do conceito de que mudanças na atividade celular do cérebro normal, em indivíduos acordados e não anestesiados, associam-se invariavelmente a mudanças no fluxo sanguíneo local. Tal relação, apesar de empiricamente considerada válida por séculos, permanece com suas bases celulares ainda inexplicadas²⁶⁻²⁸.

Mais recentemente, tem-se observado que as alterações no fluxo sanguíneo cerebral são acompanhadas de mudanças muito menores no consumo de oxigênio local, determinando mudanças no montante de oxigênio restante nos vasos sanguíneos nos sítios de ativação cerebral, ou seja, a oferta de oxigênio para as regiões ativadas não é ajustada precisamente com a demanda. A intensidade de sinal da RM é sensível a esse oxigênio carregado pelas moléculas de hemoglobina, dessa forma, é coerente que as mudanças no conteúdo de oxigênio sanguíneo nos sítios de ativação cerebral possa ser detectado por essa modalidade de imagem. Tais sinais dependentes do nível de oxigênio (*Blood Oxygen Level-Dependent signal* - sinal *BOLD*) são detectados, portanto, quando há um aumento do fluxo sanguíneo para uma determinada região de forma desproporcional ao consumo²⁶⁻²⁸.

A ressonância magnética funcional em estado de repouso (rs-fMRI) é um tipo de imagem funcional do encéfalo que avalia os sinais hemodinâmicos acima descritos, com um mecanismo de transdução de sinais ainda pouco compreendido para inferir atividade neuronal²⁹. A conectividade funcional em estado de repouso é medida pela correlação dos sinais BOLD em diferentes regiões do cérebro em “repouso”, e então é feita uma medida de sua organização funcional. Durante a aquisição da rs-fMRI, os indivíduos são orientados a descansarem silenciosamente, ao invés de realizarem tarefas²⁸.

Uma avaliação minuciosa da arquitetura funcional cerebral por meio de conectividade funcional em estado de repouso (*RSFC - Resting State Functional Connectivity*) pode prover um indicador sensível dos efeitos da exposição a drogas como a cocaína na integridade dos circuitos de controle cognitivo²⁴.

Um estudo de Raichle *et al* com rs-fMRI observou que quando um indivíduo está acordado e alerta e ainda não ativamente engajado em uma tarefa que demande atenção, um estado "padrão" de atividade cerebral existe, envolvendo, entre outras áreas, o córtex pré-frontal ventromedial (vmPFC), o cíngulo posterior e o pré-cúneo. Quando o indivíduo é recrutado para uma atividade dependente de atenção, a ativação dessas áreas é atenuada, refletindo uma redução necessária nos recursos direcionados para aquisição de informações gerais e avaliação²⁶.

Essas regiões cerebrais que exibem oscilações de baixa frequência e estão tipicamente inativas durante a execução de tarefas compreendem o *Default Mode Network* (DMN), um modo de ativação cerebral basal que engloba regiões e estruturas diretamente envolvidas na dependência³³⁻³⁵.

Sabe-se que o grau de desativação ou supressão das estruturas do DMN é proporcional às demandas da tarefa (McKiernan *et al.* 2003), sugerindo uma realocação de recursos para regiões cerebrais que não o DMN envolvidas na execução de atividades. Dessa forma, a "atividade" do cérebro em repouso tem sido conceitualizada entre um antagonismo ou uma alternância entre uma rede padrão (*Default network*) introspectiva, não relacionada a tarefas, e uma rede extrospectiva relacionada a atividades^{36,37}.

Nas últimas décadas, estudos de ressonância magnética funcional em estado de repouso (rs-fMRI) evidenciaram alterações na conectividade funcional em usuários de diversas drogas, dentre elas cocaína, heroína, morfina, nicotina, álcool e cafeína³⁸⁻⁴².

1.3 - JUSTIFICATIVA

Apesar da existência na literatura de diversos estudos avaliando o DMN em pacientes usuários de cocaína e outras drogas ilícitas, ainda são poucos (ou inexistem) estudos relevantes em usuários de crack. Espera-se que, devido ao fato desta droga ser um derivado direto da cocaína, porém com uma potência de ação muito superior, os achados encontrados nos estudos de neuroimagem funcional sejam compatíveis com os descritos na literatura para os usuários de cocaína, porém com uma intensidade maior.

É nesse contexto que se insere a importância para o meio científico deste estudo, pois o crack é uma das principais drogas de abuso encontradas no Brasil, e tem como consequências grandes danos à saúde da população, bem como diversos agravos nas esferas biopsicossociais. Compreender as alterações que são observadas nos circuitos cerebrais destes pacientes é crucial para que se possam desenvolver métodos diagnósticos e terapêuticos cada vez mais sensíveis e eficazes.

1.4 - OBJETIVOS

1.4.1 - Objetivo geral

O objetivo deste estudo de corte transversal foi de comparar a ativação da rede em estado de repouso (*Default Mode Network* - DMN) em usuários de crack com controles saudáveis.

1.4.2 - Objetivos específicos

Como objetivos específicos, pretendeu-se:

Identificar alterações na conectividade intrínseca e extrínseca do DMN em dependentes de crack comparando a controles pareados por idade e gênero.

Analisar a conectividade funcional global pelo método de análise de componentes independentes e comparar a controles pareados por idade e gênero.

Analisar a conectividade funcional seletiva estabelecendo regiões de interesse (*Regions Of Interest* – ROIs) ou análise baseada em “semente” (*seed-based analysis*), no caso sendo escolhidos o córtex cingulado anterior ventral e córtex cingulado posterior, e comparar a controles pareados por idade e gênero.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - TRIAGEM E AQUISIÇÃO DOS DADOS DE RM

Foram convidados a participar do estudo indivíduos entre 18 a 60 anos de idade, do sexo masculino ou feminino, com diagnóstico de dependência de crack, e submetidos a um programa de 16 semanas de internação em clínica especializada para tratamento intensivo de dependência química no interior do estado do Espírito Santo.

Os critérios de inclusão utilizados foram: (1) preencher os critérios para a dependência, segundo a Classificação Internacional de Doenças (CID) na categoria F14.0 (Transtornos mentais e comportamentais devidos ao uso da cocaína) e o Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais em sua Quarta Edição - Revisada (DSM-IV-TR) (Anexo A); (2) estarem clinicamente estáveis; (3) encontrarem-se no programa de 16 semanas de internação em clínica especializada para tratamento intensivo de dependência química; e (4) serem capazes de ler, escrever e falar português.

Foram excluídos do estudo os participantes que: (1) apresentassem diagnóstico de qualquer outra síndrome de dependência que não fosse ao álcool ou ao crack-cocaína, podendo, no entanto, apresentarem uso de nicotina e/ou cafeína; (2) possuísssem outros diagnósticos médicos de desordens mentais; e (3) apresentassem contraindicações à realização do exame de RM, tais como portadores de implantes metálicos (válvula cardíaca, placa, pino, parafuso, *stent*, clipe de aneurisma cerebral, estilhaço metálico no corpo, *piercing*, próteses/órteses metálicas), implantes eletrônicos (como marca-passos cardíacos, neuroestimulador, implante coclear), pacientes claustrofóbicos e com maquiagem definitiva ou tatuagem realizada nos últimos três meses.

Após o procedimento de triagem, seguindo critérios de inclusão e exclusão acima mencionados, os pacientes foram informados detalhadamente sobre o protocolo experimental, e os que concordaram em participar foram solicitados e orientados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice A).

Da clínica de tratamento intensivo os pacientes elegíveis foram encaminhados (na terceira semana de internação) em pequenos grupos por transporte rodoviário para o Laboratório de Ciências Cognitivas e Neuropsicofarmacologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo onde foram submetidos a avaliação clínica. A seguir foram dirigidos, um grupo para o serviço de Radiologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes - HUCAM, e outro para a clínica privada "Mais Medicina Diagnóstica", onde foram submetidos a exame de Ressonância Magnética sem contraste e em repouso.

Foram selecionados 38 pacientes internados em uma clínica para tratamento de dependência química do interior do estado do Espírito Santo. Destes, 20 preenchiam os critérios de inclusão, concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE. Os exames de rs-fMRI de 10 indivíduos foram adquiridos em um aparelho de 1,5T da marca Philips do Serviço de Diagnóstico por Imagem do HUCAM, e dos outros 10 realizados em um aparelho de 3,0T, também da marca Philips, da clínica privada supracitada, devido à maior resolução das imagens.

Entretanto, devido a limitações técnicas e divergências na aquisição das imagens, dados de dois pacientes 1,5T e de cinco pacientes do grupo 3,0T tiveram que ser excluídos da análise. Os dados adquiridos nas duas máquinas não puderam ser analisados de forma conjunta (um grande grupo de 13 pacientes) devido a diferenças entre os parâmetros de aquisição que inviabilizaram o processamento e pós-processamento de forma equiparada.

Sendo assim, de uma forma conjunta, foram incluídos na análise do presente estudo os dados de 13 indivíduos usuários de crack (sendo oito deles com 1,5T e cinco com 3,0T). O processo de inclusão dos pacientes encontra-se ilustrado na FIG. 1.

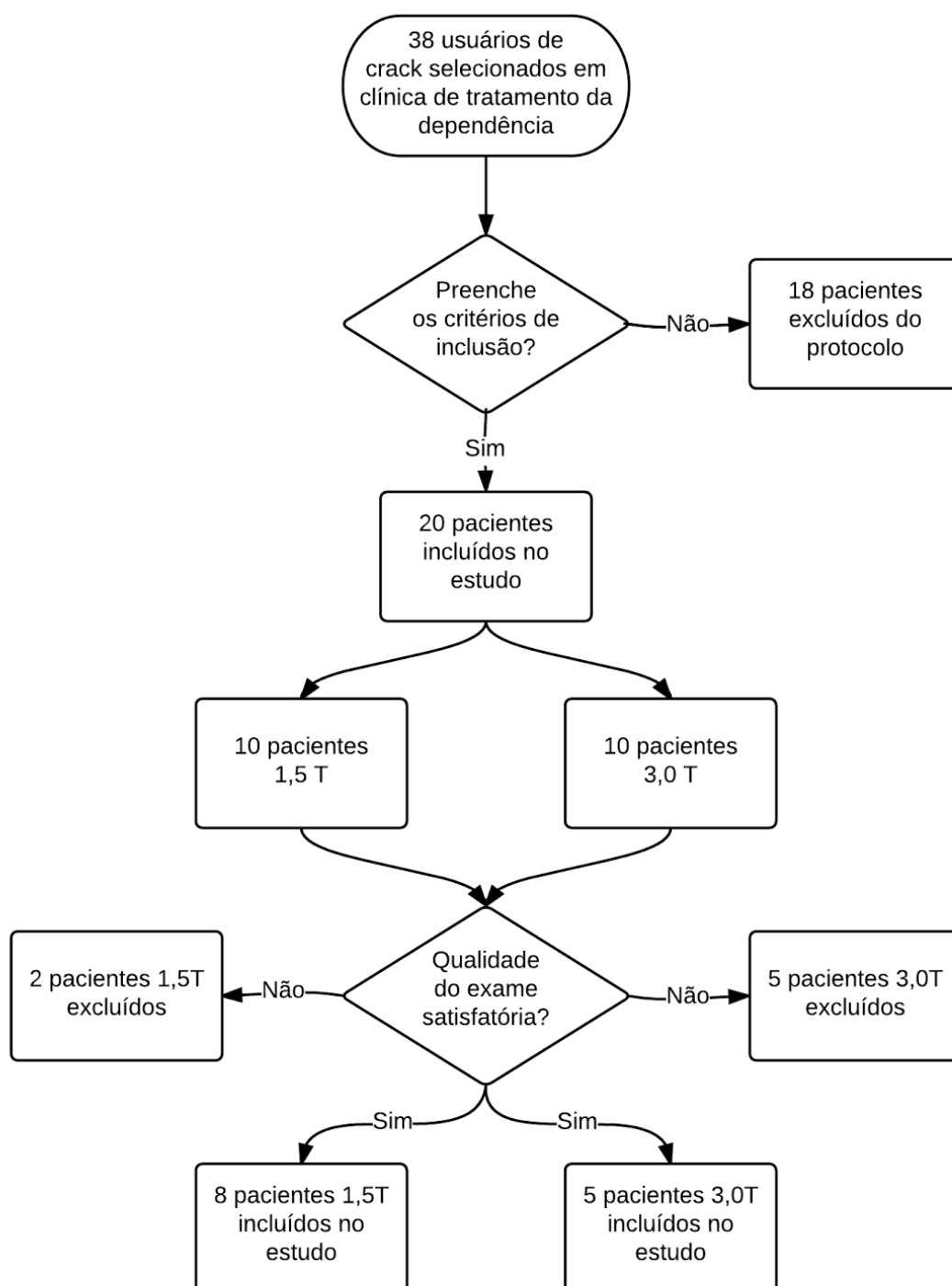


FIGURA 1 - Fluxograma do estudo

O grupo controle para cada subgrupo (1,5T e 3,0T) de usuários de crack foi composto por indivíduos do gênero masculino, saudáveis, não usuários de drogas (tendo sido permitido o uso de álcool e/ou tabaco), e pareados por idade, recrutados

entre os funcionários de ambos os serviços (HUCAM e a clínica privada) e estudantes da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), que tiveram seus dados adquiridos nos mesmos equipamentos, sendo em número de oito em 1,5T e outros oito com 3,0T.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Espírito Santo (CAAE 19403713.6.0000.5060 e 13528213.2.0000.5060), e foi conduzido em estrita concordância com a Declaração de Helsinki e de acordo com os parâmetros éticos do Comitê de Experimentos em Humanos da UFES, onde este estudo foi conduzido. Os indivíduos do grupo controle foram informados sobre o protocolo experimental e voluntariamente assinaram o TCLE antes do início do experimento.

2.1.1 - Parâmetros técnicos dos exames de RM

Os exames de RM foram realizados enquanto os indivíduos permaneciam em repouso, porém acordados, com olhos fechados, em aparelhos Philips Achieva, de 1,5T e 3,0 T (*Philips Medical System Nederland B.V.*, Holanda) com bobinas específicas para crânio, modelo SENSE *Head Coil* (8 canais), no Serviço de Diagnóstico por Imagem do HUCAM e na clínica privada "Mais Medicina Diagnóstica", respectivamente.

Para ambos os grupos foram obtidas sequências de alta definição estruturais ponderadas em T1, conforme os parâmetros a seguir (1,5/3,0T): TR = 8,80/7,85 ms, TE = 4,05/3,77 ms, *Flip angle* = 8/8, Número de *slices* = 180/160. Além disso, as imagens de rs-fMRI foram adquiridas com uma sequência de imagens ecoplanares gradiente-eco com os seguintes parâmetros: TR = 3000/3000 ms, TE = 50/30 ms, *Flip angle* = 90/80, Número de *slices* = 35/37, Matriz = 64x64/80x80.

2.1.1.1 - Sequência T1 3D

As sequências ponderadas em T1 são obtidas com ambos TR e TE curtos (abaixo de, respectivamente, 1000 ms e 30 ms), e são basicamente anatômicas, sendo úteis para diferenciação entre as substâncias cinzenta e branca (esta com elevada concentração de lipídeos)⁴⁰.

As sequências volumétricas T1 (T1 3D - FSPGR, BRAVO, MPRAGE) são adquiridas por meio de protocolos com voxels de tamanho idêntico em todas as suas medidas e, pelo fato de serem tridimensionais, podem ser reformatadas utilizando-se qualquer ângulo ou direção⁴⁰.

2.1.1.2 - Resting state f-MRI

A aquisição de imagens de RM funcionais é uma técnica de aquisição rápida de imagens do cérebro durante a atividade ou estimulação, ou mesmo em repouso. Os dois conjuntos de imagens são então subtraídos, demonstrando a atividade funcional do cérebro em consequência do aumento do fluxo sanguíneo ao córtex ativado³⁴.

Nos últimos anos, tem havido um aumento no interesse na aplicação da técnica de RM funcional no estado de repouso, a rs-fMRI, ou "conectividade funcional por imagem de ressonância magnética" ("*functional connectivity MR imaging*")³⁰. A rs-fMRI focaliza as flutuações espontâneas de baixa frequência (< 0,1 Hz) dependentes do nível de oxigênio do sangue (*Blood Oxygen Level Dependent* - BOLD). Biswal *et al* observaram que flutuações de baixa frequência das regiões do córtex sensorio motor primário associado ao movimento da mão no cérebro em repouso correlacionavam intensamente, tanto dentro como entre os hemisférios, com regiões cerebrais funcionalmente relacionadas. Estes autores foram os pioneiros a concluir que correlações de flutuações de baixa frequência durante o repouso, que proviriam de flutuações da oxigenação ou do fluxo sanguíneo, seriam indicadores neurofisiológicos da conectividade no cérebro⁴³.

A rs-fMRI investiga regiões, espacialmente distintas, com atividades em sincronia que ocorrem na ausência de estímulos. Assim, tem proporcionado novos conhecimentos sobre a arquitetura funcional do cérebro saudável e em condições patológicas⁴². Várias RSNs (redes em estado de repouso - *resting state networks*), que apresentaram sincronia nas flutuações BOLD espontâneas foram identificadas, incluindo a rede de modo padrão (*default mode network* – DMN) e as redes sensório-motora, visual e atencional.

As aplicações clínicas da rs-fMRI são ainda muito limitadas, mas a sua potencialidade tem sido progressivamente investigada, incluindo o planejamento pré-cirúrgico de pacientes com tumor cerebral e epilepsia³⁰. Considerando-se que este procedimento não é invasivo e não requer cooperação do paciente, a rs-fMRI pode ser particularmente útil em pacientes com limitações aos métodos tradicionais para localização de lesões, e vem sendo muito aplicada em casos de doenças neurodegenerativas (como doença de Alzheimer), epilepsia, depressão e na dependência e abuso de drogas^{42;44-49}.

2.2 - PROCESSAMENTO DE DADOS

As imagens funcionais foram pré e pós-processadas utilizando-se o FSL (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>), um *software* desenvolvido por membros do Grupo de Análises do *Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain* - *FMRIB* -, da Universidade de Oxford, Reino Unido⁵⁰.

O movimento de cabeça foi corrigido através do realinhamento da série temporal com o volume médio, e todo o material não encefálico foi removido utilizando-se a ferramenta de extração cerebral (*Brain Extraction Tool* - *BET*) para cada indivíduo. As imagens foram então ajustadas para serem utilizadas como imagens estruturais e pré-processadas para a suavização espacial (*spatial smoothing*), normalização de intensidade, subtração de perfusão, filtragem temporal e submetidas a normalização espacial para o Espaço Padrão *Montreal Neurological Template* (*MNT*).

2.2.1 - Análise de componentes independentes (ICA - *Independent Component Analysis*) e Regressão Dual (*Dual Regression*)

As imagens foram então decompostas espacial e temporalmente em uma matriz de dados 4D (tempo x voxels) em uma série de cursos temporais e mapas espaciais associados utilizando a ferramenta MELODIC (*Multivariate Exploratory Linear Decomposition into Independent Components*) do FSL (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/melodic2/index.html). Esse instrumento foi utilizado como uma ferramenta primária para objetivamente identificar as redes de estado de repouso, especialmente o DMN para o propósito deste estudo^{51,52}.

Para a análise de regressão dual, a série de mapas espaciais da análise da média de grupo dos controles não-usuários foi utilizada como um modelo de acordo com Rytty *et al*⁵³ para gerar versões sujeito-específicas dos mapas espaciais, e séries temporais associadas⁵¹⁻⁵⁵ para testar as diferenças entre os grupos utilizando-se a ferramenta de teste de permutação não-paramétrica de randomização com 5.000 permutações (alfa = 0,05) corrigido para múltiplas comparações entre os cérebros.

2.2.2 - Análise de correlação baseada em regiões de interesse (ROIs ou *seed-based analysis*)

Essa análise utilizou os mesmos dados de entrada que os da ICA^{55,56}. Ela incluiu os mesmos regressores sujeito-específicos (derivados da ICA) que foram incluídos na análise de regressão dual supracitada. A única diferença entre elas é que a presente análise foi baseada em regiões de interesse (ROIs). Os ROIs escolhidos e suas coordenadas de Talaraich foram baseados naqueles definidos por Greicius *et al* como as regiões principais que constituem o DMN.

Assim, dois ROIs (de 8 mm de diâmetro cada) foram escolhidos, um centrado no córtex cingulado posterior (PCC: x = 2, y = -51, z = 27) e outro no córtex cingulado anterior ventral (vACC: x = 2, y = 38, z = -2). Escores de correlação foram

convertidos em escores Z usando a transformação Z de Fisher. Mapas individuais de cada sujeito de todos os *voxels* positiva e negativamente previstos para cada regressor foram obtidos, corrigindo-os para múltiplas comparações a nível de grupo utilizando-se a teoria Gaussiana de campo aleatório com $Z > 2,3$ e um limiar de significância de grupo (valor P) de 0,05.

Análises de grupo foram conduzidas utilizando-se um modelo de efeito misto implementado no FSL, que produziu mapas de Z -scores de atividades associadas com cada ROI. O modelo final de análise encontra-se representado na FIG. 2.

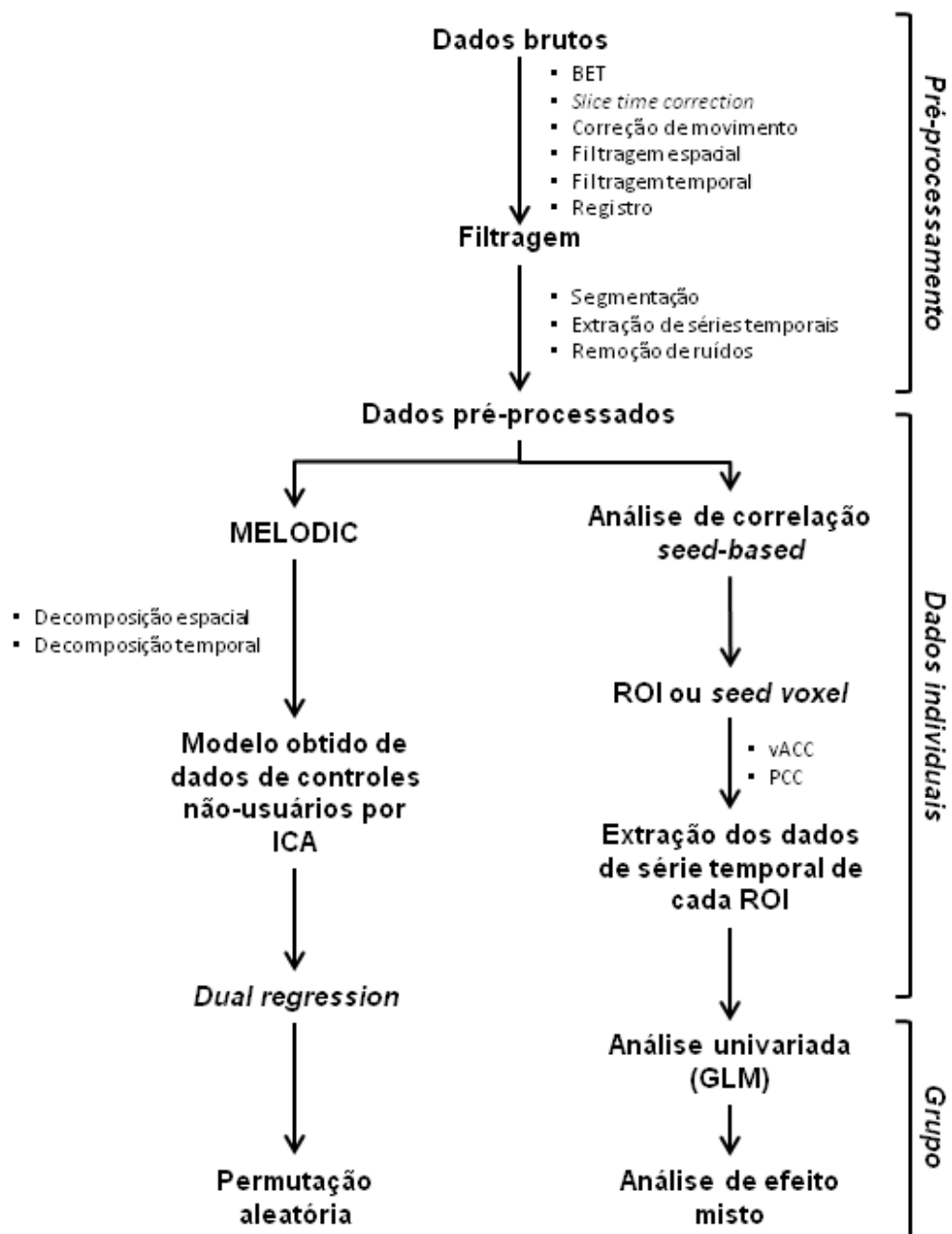


FIGURA 2 – Diagrama da análise de dados.

BET = Ferramenta de extração cerebral (*Brain Extraction Tool*); MELODIC = Decomposição linear exploratória multivariada em componentes independentes (*Multivariate Exploratory Linear Decomposition into Independent Components*); ICA = Análise de componentes independentes (*Independent Component Analysis*); ROI = Região de interesse (*Region Of Interest*); vACC = Córtex cingulado anterior ventral (*ventral Anterior Cingulate Cortex*); PCC = Córtex cingulado posterior (*Posterior Cingulate Cortex*); GLM = Modelo linear geral (*General Linear Model*).

3 - RESULTADOS

3.1 - ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E PADRÃO DE USO DA DROGA

Os dados referentes à análise sociodemográfica e ao padrão de utilização de drogas e comorbidades encontram-se na TABELA 1.

De um total de 20 indivíduos selecionados para participar do estudo, foi necessária a exclusão de 7 durante as fases de pré-processamento e processamento dos dados utilizando-se o FSL, por problemas na aquisição dos dados (número de cortes incorreto, suavizador de ruídos habilitado ou dados corrompidos), totalizando 13 usuários para análise final, sendo 8 do grupo 1,5T e 5 do grupo 3,0T. Todos os dados dos 16 controles coletados estavam adequados para análise, e puderam ser aproveitados para comparação entre grupos.

Com relação ao gênero, 100% da amostra (n=13) compreendeu indivíduos jovens do sexo masculino, com idade média global de 29,9 (\pm 9,6) anos, sendo de 29,1 \pm 11,9 anos para o grupo 1,5T e 33,8 \pm 9,8 anos para o grupo 3,0T, não exibindo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, e nem entre os casos e respectivos controles.

Em geral, os usuários de crack tinham baixo nível de escolaridade (a grande maioria com menos de três anos), a maioria encontrava-se desempregada (50% no grupo 1,5T) ou possuíam emprego informal, sem carteira de trabalho assinada (60% no grupo 3,0T), bem como eram solteiros (50% no grupo 1,5T e 80% no 3,0T) (Tab. 1).

Além disso, a maioria dos pacientes (62% no grupo 1,5T e 100% no 3,0T) eram tabagistas. Exceto por idade e estado civil, todas as outras características, como escolaridade, situação trabalhista e uso de tabaco diferiram do grupo controle de não usuários (Tab. 1). Tal diferença era esperada, considerando-se o empobrecimento que está relacionado à dependência do crack.

A idade média de início do uso do crack foi de $20,6 \pm 8,1$ anos quando considerado o grupo total de usuários, que consumiam em média $14,4 \pm 14,4$ pedras por dia (Tab. 1), e encontravam-se em média 4 semanas abstinentes da droga antes do início do protocolo experimental.

Os pacientes foram mantidos em um ambiente restritivo para o uso da droga na clínica onde estavam sob tratamento. Apesar disso, a presença de drogas na urina foi checada qualitativamente em intervalos aleatórios durante o período de tratamento. Todas as amostras de urina foram analisadas como negativas durante o estudo.

O grupo controle foi constituído de indivíduos jovens do sexo masculino, com média de $31,4 \pm 7,0$ anos de idade no grupo 1,5T e de $29,1 \pm 11,9$ anos no grupo 3,0T. Eles não diferiram do grupo de usuários de crack quanto à idade ($p = 0,62$ e $0,48$, respectivamente), porém apresentaram de forma geral nível de escolaridade mais elevado (em média $12,7 \pm 3,3$ e $12,9 \pm 2,6$ anos para os grupos 1,5 e 3,0T, respectivamente - $p < 0,0001$), a maioria deles estudantes ou servidores. A maioria dos controles não era tabagista (93,7 %).

TABELA 1 – Características sociodemográficas e padrões de uso do crack em uma amostra de usuários masculinos, em abstinência por no mínimo 4 semanas, que foram submetidos a exames de rs-fMRI em aparelhos de 1,5T (n = 8) e 3,0T (n = 5), comparadas a controles não usuários do gênero masculino, pareados por idade, e que também foram submetidos a exames de rs-fMRI em aparelhos de 1,5T (n = 8) e 3,0T (n = 8).

Variável			Controles sadios	Usuários de crack	Valor <i>p</i>		
<i>Idade</i> [média (DP)]	1,5T		31,4 (7,0)	29,1 (10,6)	<i>t</i> (14) = 0,50	0,62	
	3,0T		29,1 (11,9)	33,8 (9,8)	<i>t</i> (11) = -0,73	0,48	
<i>Anos de estudo</i> [média (DP)]	1,5T		12,7 (3,3)	1,9 (0,8)	<i>t</i> (13) = 9,14	< 0,0001	
	3,0T		12,9 (2,6)	2,4 (1,1)	<i>t</i> (11) = 8,44	< 0,0001	
<i>Situação trabalhista</i> <i>n (%)</i>	1,5T	Emprego formal	6 (75,0%)	0 (0,0%)	<i>X</i> ₂ = 14	0,016	
		Emprego informal	1 (12,5%)	0 (0,0%)			
		Desempregado	0 (0,0%)	4 (50,0%)			
		<i>Freelancer</i>	0 (0,0%)	2 (25,0%)			
		Auxílio-doença	0 (0,0%)	1 (12,5%)			
		Não informado	1 (12,5%)	1 (12,5%)			
	3,0T	Emprego formal	3 (37,5%)	1 (20,0%)	<i>X</i> ₂ = 6,66	0,16	
		Emprego informal	1 (12,5%)	0 (0,0%)			
		Desempregado	3 (37,5%)	1 (20,0%)			
		<i>Freelancer</i>	0 (0,0%)	3 (60,0%)			
		Auxílio-doença	0 (0,0%)	0 (0,0%)			
		Não informado	1 (12,5%)	0 (0,0%)			
	<i>Estado civil</i> <i>n (%)</i>	1,5T	Solteiro	5 (62,5%)	6 (75,0%)	<i>X</i> ₂ = 2,09	0,35
			Casado	3 (37,5%)	1 (12,5%)		
Divorciado			0 (0,0%)	1 (12,5%)			
3,0T		Solteiro	5 (62,5%)	4 (80,0%)	<i>Fisher</i>	1,00	
		Casado	3 (37,5%)	1 (20,0%)			
		Divorciado	0 (0,0%)	0 (0,0%)			
<i>Uso de tabaco</i> <i>n (%)</i>	1,5T	Sim	0 (0,0%)	5 (62,5%)	<i>Fisher</i>	0,013	
		Não	8 (100,0%)	3 (37,5%)			
	3,0T	Sim	1 (12,5%)	5 (100,0%)	<i>Fisher</i>	0,005	
		Não	7 (87,5%)	0 (0,0%)			
<i>Uso de crack</i>							
<i>Idade de início do uso</i> [média (DP)]			1,5T	22,6 (8,9)			
			3,0T	17,4 (5,9)			
<i>Quantidade de pedras/dia utilizadas</i> [média (DP)]			1,5T	14,8 (16,2)			
			3,0T	13,8 (13,6)			

3.2 – RESTING STATE FMRI E DEFAULT MODE NETWORK

3.2.1 – Análise de Componentes Independentes (ICA)

A análise de componentes independentes (*Spatial Independent Component Analysis* - ICA) feita por meio do software do FSL determinou de forma satisfatória o componente relacionado ao DMN nos usuários de crack e indivíduos do grupo controle, gerando uma média adequada de cada grupo – 1,5T (FIG. 3A) e 3,0T (FIG. 3B).

A análise de regressão dual considerando o grupo controle como modelo e análise posterior através de permutações aleatórias não evidenciou diferenças entre os grupos em ambos os *scanners* (1,5T e 3,0T), realizando-se análises de subtração [usuários - controles] e [controles - usuários].

A ausência de diferenças entre os grupos se manteve nas diversas formas de análise, incluindo ou não indivíduos com movimento de cabeça elevado e utilizando ou não um filtro de ruído.

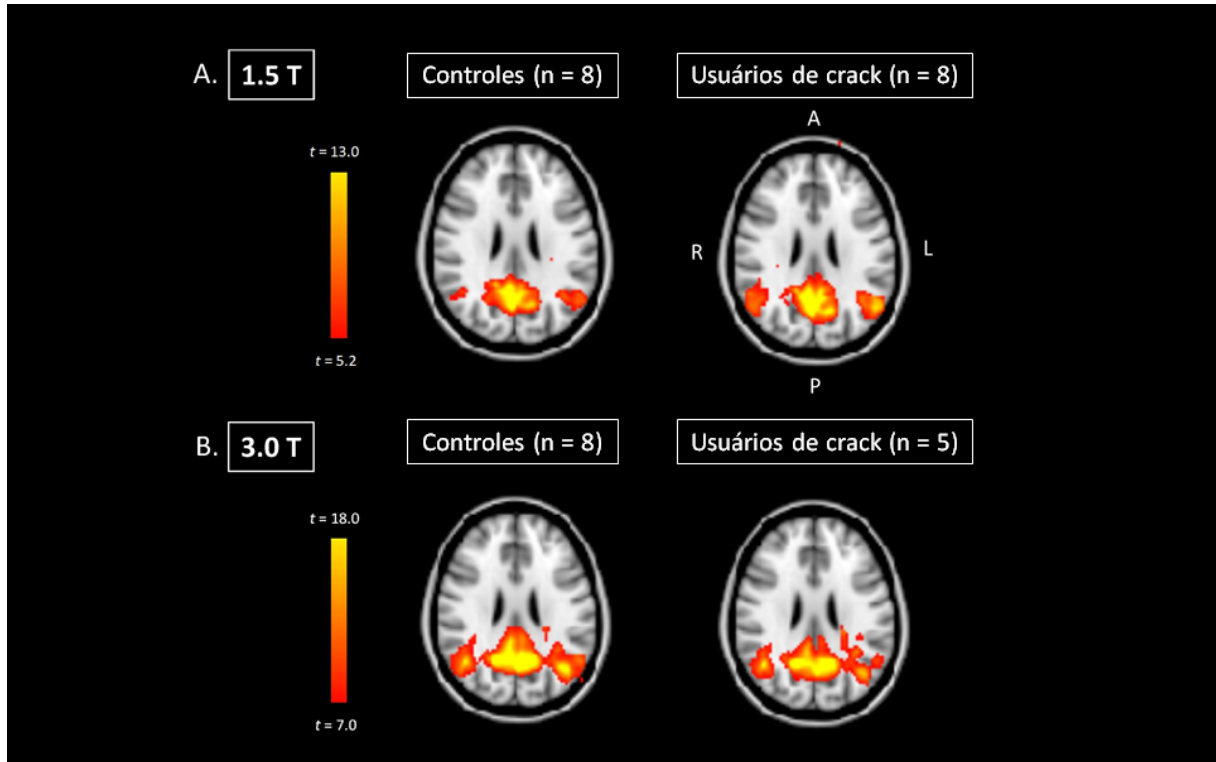


FIGURA 3 – *Default Mode Network* (DMN) definido por Análise de Componentes Independentes (ICA) em dados de rs-fMRI nos aparelhos de 1,5T (A) e 3,0T (B) em usuários de crack e controles não usuários pareados por idade. A = *Anterior*; P = *Posterior*; R = *Direita*; L = *Esquerda*.

3.2.2 – Análise de correlação *seed-based*

A atividade no vACC (centrado em $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) foi correlacionada positivamente ao giro temporal médio esquerdo e giro frontal medial esquerdo no grupo controle não usuário (FIG. 4, TABELA 2); e ao giro temporal inferior esquerdo e córtex cingulado anterior dorsal direito em usuários de crack (FIG. 4, TABELA 2).

Outra correlação de atividade positiva foi observada entre o ROI centrado no PCC ($x = 2$, $y = -51$, $z = 27$) e o giro temporal médio direito, os giros frontal superior esquerdo, giro frontal medial direito e o córtex cingulado posterior dorsal esquerdo em indivíduos do grupo controle (FIG. 4, TABELA 2); e o giro temporal médio direito,

giros frontal superior e medial esquerdos, giro angular esquerdo e o córtex cingulado posterior dorsal esquerdo em usuários de crack (FIG. 4, TABELA 2).

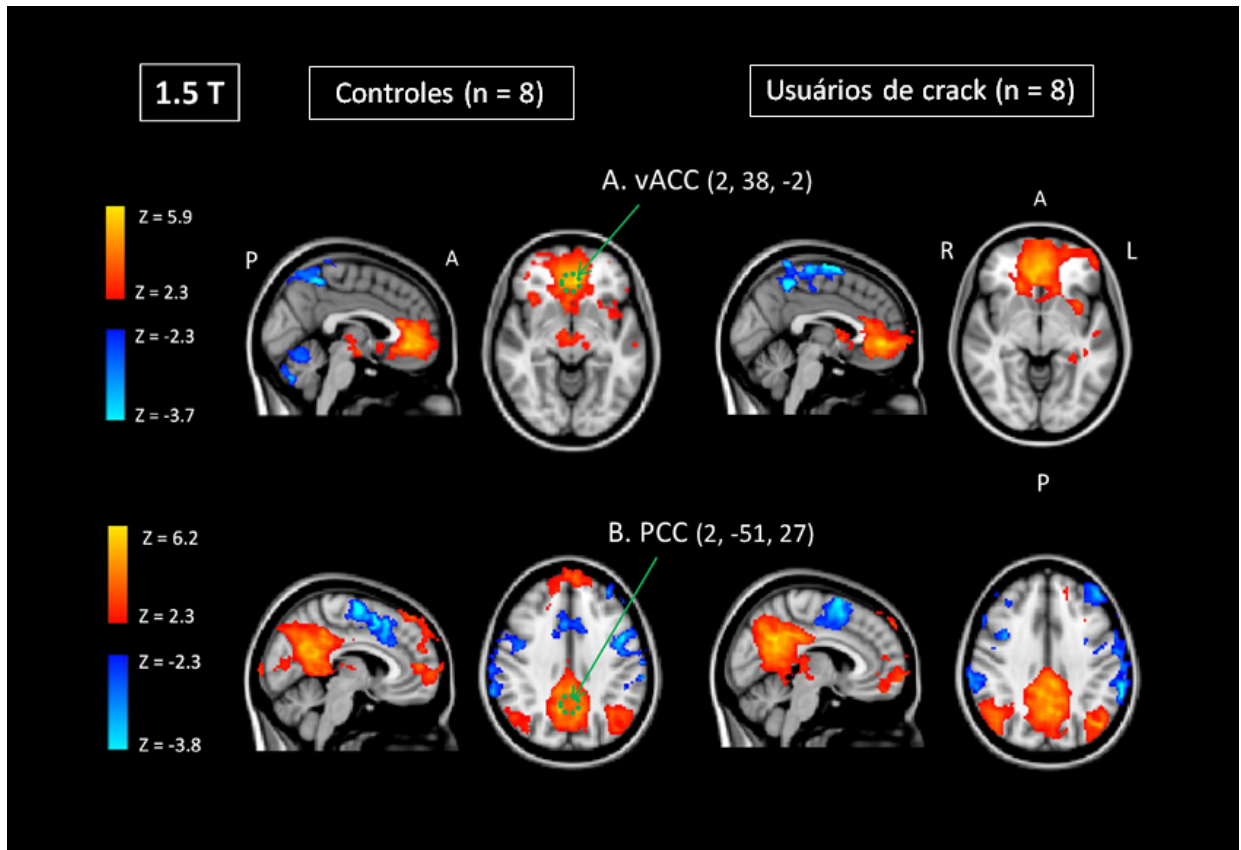


FIGURA 4 – Conectividade funcional determinada pela análise de correlação baseada em ROIs circulares de 8mm de diâmetro (retratados em verde) e o (A) córtex cingulado anterior ventral (vACC: $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) e (B) córtex cingulado posterior (PCC: $x = 2$, $y = -51$, $z = 27$) considerando-se as coordenadas utilizadas por Greicius *et al* (2003), em dados de rs-fMRI adquiridos em aparelhos de 1,5T em usuários de crack e controles não usuários pareados por idade. Amarelo/vermelho: correlação positiva; Azul/azul claro: correlação negativa; A = Anterior; P = Posterior; R = Direita; L = Esquerda.

TABELA 2 – Regiões com correlação positiva em relação aos ROIs de 8 mm de diâmetro posicionados no córtex cingulado anterior ventral (vACC: x = 2, y = 38, z = -2) e córtex cingulado posterior (PCC: x = 2, y = -51, z = 27), considerando-se as coordenadas utilizadas por Greicius *et al* (2003) em usuários de crack (n = 8) comparados a controles pareados por idade não usuários (n = 8).

Scanner 1.5 T						Coordenadas de Talairach			Área de Brodmann (Região)
ROIs	Grupo	Cluster	Voxels	p	Z máx	X	Y	Z	
vACC	Controle	1	966	0,00152	3,89	-56	-12	-16	21 (Giro temporal médio esquerdo)
		2	7058	$1,64 \times 10^{-16}$	5,61	-6	40	-8	10 (Giro frontal medial esquerdo)
	Crack	1	998	0,0012	3,87	-48	-2	-26	20 (Giro temporal inferior esquerdo)
		2	8499	$7,68 \times 10^{-19}$	5,97	2	44	-4	32 (Cingulado anterior dorsal direito)
PCC	Controle	1	675	0,0268	4,39	56	0	-22	21 (Giro temporal médio direito)
		2	1166	0,000885	4,27	-8	66	6	10 (Giro frontal superior esquerdo)
		3	2781	$1,19 \times 10^{-7}$	4,39	30	28	58	6 (Giro frontal médio direito)
		4	13250	$1,63 \times 10^{-23}$	5,95	-4	-52	28	31 (Cingulado posterior dorsal esquerdo)
	Crack	1	1043	0,00197	4,26	68	-2	-10	21 (Giro temporal médio direito)
		2	1532	$9,45 \times 10^{-5}$	4,77	0	64	4	10 (Giro frontal medial esquerdo)
		3	1645	$4,92 \times 10^{-5}$	5,61	-46	-70	34	39 (Giro angular esquerdo)
		4	1824	$1,8 \times 10^{-5}$	4,11	-36	22	52	8 (Giro frontal superior esquerdo)
		5	15337	$4,92 \times 10^{-26}$	6,26	-2	-52	24	31 (Cingulado posterior dorsal esquerdo)

A atividade no vACC foi negativamente relacionada aos giros frontais superiores direito e esquerdo, lobo semilunar inferior direito, lobo parietal superior esquerdo, giro frontal medial esquerdo e lóbulo parietal superior no grupo controle de não usuários (FIG. 4, TABELA 3); e a atividade do PCC foi relacionada negativamente ao giro frontal médio esquerdo, giro frontal superior direito e lóbulos parietais inferiores direito e esquerdo no grupo de usuários de crack (FIG. 4, TABELA 3).

Além disso, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0322$) para uma correlação negativa do vACC com a região correspondente ao lobo parietal superior esquerdo (área de Brodmann 5) na comparação entre os grupos, em que a correlação entre o vACC e essa região no grupo de usuários de crack foi fortemente negativa quando comparada aos controles não usuários (FIG. 5, TABELA 3).

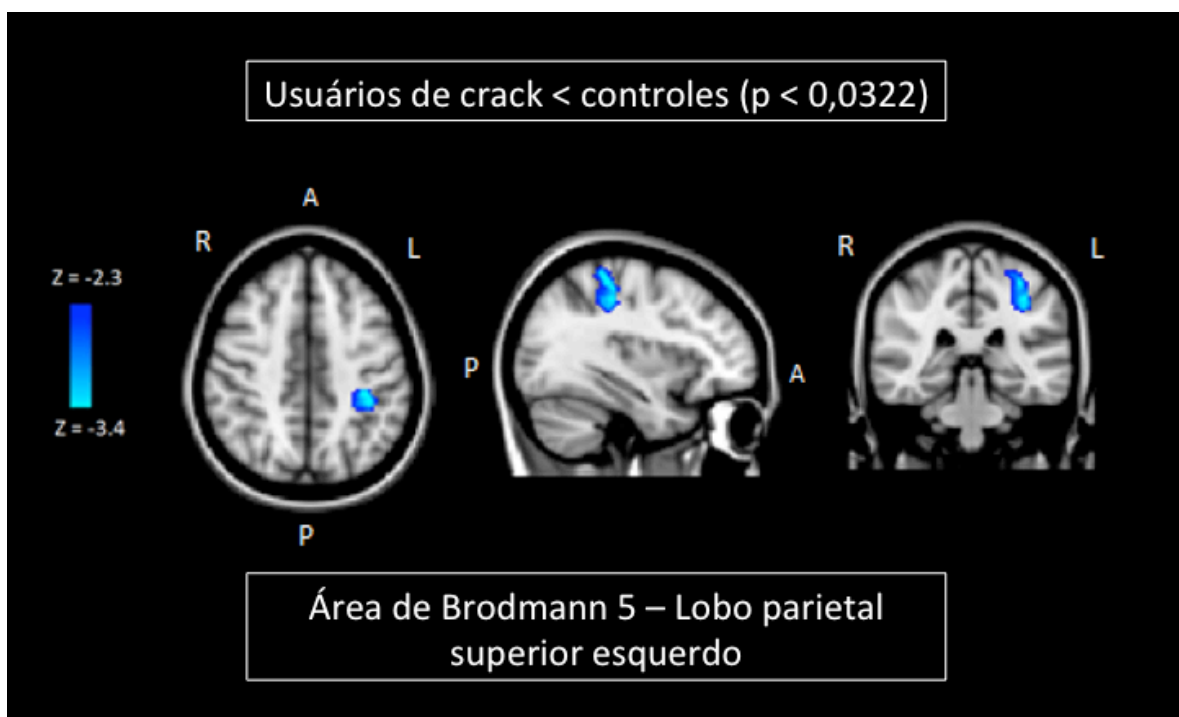


FIGURA 5 – Correlação negativa do córtex cingulado anterior ventral (vACC: $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) com a área correspondente ao lóbulo parietal superior esquerdo (área de Brodmann 5: $x = -32$, $y = -38$, $z = 60$) em usuários de crack quando comparados ao grupo de controles não usuários pareados por idade. Amarelo/vermelho: correlação positiva; Azul/azul claro: correlação negativa; A = Anterior; P = Posterior; R = Direita; L = Esquerda.

4 - DISCUSSÃO

A conectividade total do DMN em usuários de crack em abstinência por ao menos 4 semanas não foi diferente da observada em controles não usuários pareados por idade quando analisada por análise de componentes independentes (ICA), independente da resolução do aparelho de RM (1,5T ou 3,0T). Contudo, uma análise mais específica de relações individuais entre regiões de interesse (ROIs) e todas as outras regiões cerebrais através da análise de correlação *seed-based* mostrou uma grande correlação negativa entre a porção frontomedial do DMN, pela disposição de um ROI arredondado de 8 mm de diâmetro no córtex cingulado anterior ventral (vACC), e o lobo parietal superior esquerdo, que pode ser considerado uma parte da porção posterior do DMN.

Explorar o DMN e sua conectividade na dependência química tem sido de grande interesse para ajudar a melhor compreender essa doença complexa (Sutherland *et al* 2012, Barkhof *et al* 2014). Há poucos estudos utilizando ressonância magnética funcional em estado de repouso (rs-fMRI) para investigação de efeitos e/ou consequências das drogas de abuso com resultados interessantes, porém diversos. Por exemplo, a administração aguda de nicotina⁵⁶ ou cafeína^{57,58} em indivíduos não usuários, mostrou mudanças globais, ou ausência de mudanças, aumentos ou decréscimos na conectividade funcional de redes de repouso ou estruturas cerebrais que podem estar relacionadas ao DMN. Esses estudos não descrevem mudanças em estruturas ou conectividade do DMN por si, exceto quando a droga foi administrada de forma aguda em não-usuários, como para a nicotina³⁷, o que não representa realmente a dependência química como uma condição crônica e severa, ou durante o uso da droga ou de terapias substitutivas em usuários dependentes.

Em alcoolistas, Camchong *et al*³³ observaram um decréscimo progressivo da sincronia de estado de repouso na rede de recompensa e aumento progressivo na rede de controle executivo em alcoolistas abstinentes quando comparados a controles que não faziam abuso de substâncias. Posteriormente, em outro estudo, os mesmos autores também sugeriram que uma menor sincronia em estado de

repouso durante abstinências por curtos períodos pode prever recaídas ao uso de álcool subsequentemente³³.

Em relação à dependência de opioides, Upadhyay *et al*⁵⁹ observaram que um grupo de pacientes dependentes dessas substâncias apresentaram decréscimos significativos na conectividade funcional (CF) em regiões incluindo ínsula anterior, núcleo *accumbens* e subdivisões da amígdala, quando comparados a indivíduos saudáveis, e que a maior duração da utilização correlacionou-se com maior grau de mudanças na CF. Ma *et al*³⁰ encontraram CF aumentada em usuários crônicos ativos de heroína no hipocampo direito e redução da CF no córtex cingulado anterior dorsal direito e caudado esquerdo quando comparado a controles não usuários. Já Qiu *et al*⁶⁰ observaram que indivíduos dependentes de heroína, todos em tratamento com utilização de metadona, apresentaram redução da CF no córtex orbitofrontal medial bilateral, tálamo dorsal medial bilateral, cúneo bilateral e giro lingual quando comparado com controles não usuários.

Em dependentes de cocaína, que estavam sob uso da droga, Camchong *et al*³³ encontraram hiperconectividade do córtex cingulado anterior. Em contraste, Gu *et al*³⁴ analisaram rs-fMRI com ROIs em núcleos do sistema mesocorticolímbico e observaram redução na CF rede-específica em indivíduos usuários ativos de cocaína, correlacionado negativamente com o tempo de uso da droga. Liang *et al*⁶¹ evidenciaram que usuários ativos de cocaína não submetidos a tratamento da dependência apresentam redução da conectividade entre o DMN e a rede de saliência quando comparados a controles saudáveis. Também observaram diversas outras conexões corrompidas, entre o cingulado anterior e a rede de saliência/lobo temporal medial, entre o cingulado posterior e a rede de controle executivo e entre o DMN e a ínsula bilateralmente.

Kelly *et al*²⁴, com foco na CF em estado de repouso interhemisférica, encontraram-na reduzida em dependentes de cocaína que se encontravam abstinentes por mais de duas semanas, quando comparado a indivíduos não-usuários, notadamente entre núcleos da rede de atenção dorsal, compreendendo o frontal lateral bilateral, pré-motor medial e áreas parietais posteriores. Ding e Lee⁶² encontraram decréscimo na

CF do hipocampo em dependentes de cocaína, também abstinentes por mais de duas semanas, para diversos modelos de análise testados.

Deve-se mencionar que os estudos supracitados foram conduzidos com dependentes de cocaína que estavam utilizando a droga no momento da análise ou com um curto período de abstinência. Essa condição é muito diferente da do presente estudo, no qual usuários de crack tiveram seus exames de rs-fMRI realizados após abstinência da droga por no mínimo 30 dias, devido ao ambiente restritivo da clínica onde estavam internados para tratamento e porque era necessária estabilização clínica da abstinência aguda, a qual geralmente é severa, antes do início de procedimentos terapêuticos adicionais. Esse tempo maior de abstinência pode ter permitido ao cérebro uma chance de recuperação funcional, ou o DMN e sua conectividade intrínseca não foi afetada ou foi depreciada de forma leve pela exposição à droga. De fato, já se mostrou que após 18 dias de abstinência, existe uma recuperação do dano de estresse oxidativo e aumento das defesas antioxidantes em dependentes de crack do sexo feminino⁶³.

A expressão "*default mode*" da função cerebral foi despretensiosamente utilizada pela primeira vez por Raichle *et al*²⁶ quando da investigação a respeito de quais regiões cerebrais eram persistentemente suprimidas quando indivíduos realizavam tarefas de ativação cognitiva, direcionadas a objetivos⁶⁴. Eles encontraram que áreas cerebrais, notadamente o córtex cingulado posterior e pré-cúneo e córtex pré-frontal ventromedial, que permanentemente eram observados como apresentando desativação durante essas tarefas, não apresentavam variações significativas na extração de oxigênio durante o estado de repouso típico (fixação visual passiva ou em repouso com olhos abertos ou fechados), quando elas demonstraram estar ativadas. Com tal evidência, suspeitou-se que tais decréscimos localizados de atividade durante a execução de tarefas ocorre como um infradesnívelamento de um nível basal de atividade, retornando ao seu estado basal quando em repouso. Ou seja, essas áreas parecem estar tonicamente ativas no estado basal, e sua atividade é temporariamente suspensa em contraste com as áreas transitoriamente ativadas para suportar atividades direcionadas a objetivos²⁶.

O "*default mode*" foi posteriormente definido como uma rede (DMN) em estudo conduzido por Greicius *et al*⁶⁵. No estudo, eles utilizaram fMRI para examinar atividade cerebral, utilizando uma tarefa de memória de trabalho para definir regiões no córtex cingulado posterior e cingulado anterior ventral que apresentaram decréscimos na atividade e regiões no córtex pré-frontal lateral mostrando aumento na atividade relacionada a tarefas. Através da aplicação de uma análise de conectividade funcional por RM em estado de repouso e dados de processamento visuais eles demonstraram uma conectividade funcional em estado de repouso entre regiões implicadas no *default mode*.

A função cerebral precisa desempenhada pelo DMN permanece incompreendida. Greicius *et al*⁶⁵ sugeriram que a recuperação e manipulação de memórias episódicas e conhecimento semântico são fortes candidatos. De acordo com Raichle²⁶, o DMN subsidia processos envolvendo processamento emocional (córtex pré-frontal ventromedial), atividade mental auto-referencial (córtex pré-frontal dorsomedial), e a lembrança de experiências prévias (elementos posteriores do DMN).

Considerando-se que o DMN tem sido definido como responsável por uma atividade cerebral basal intrínseca, que está consistentemente ativa durante o estado de repouso quando os olhos estão fechados ou abertos ou fixos em um ponto, independente do que a pessoa esteja pensando ou desejando, e é desativada durante tarefas que demandem atenção, não importando o tipo da tarefa, bem como supostamente tendo uma atividade tônica, o DMN pode estar envolvido em mais funções cerebrais fundamentais que não podem simplesmente ser um reflexo da atividade mental consciente, assim envolvida em uma maior organização funcional intrínseca como sugerido por Raichle e Snyder⁶⁶.

Como se trata de uma rede funcionante que nunca para, o DMN parece apenas variar de acordo com o nível de consciência^{67,68}, mantendo-se ativo durante sedação leve⁶⁹ e anestesia⁷⁰, e mesmo em estado vegetativo⁷¹, embora com algumas variações de sua conectividade⁶⁸, porém encontra-se completamente ausente apenas na morte cerebral⁷¹.

Portanto, parece razoável considerar que o DMN estaria afetado apenas sob condições extremamente ameaçadoras à vida, que por sorte podem não ser o caso dos nossos usuários de crack. Nesse sentido, é um alívio termos encontrado que o DMN global dos usuários de crack ainda não está afetado quando comparados aos controles não usuários pareados por idade. Isto é, embora o uso de crack seja altamente prejudicial aos nossos jovens pacientes em muitos sentidos, existe uma esperança de que haja uma boa recuperação, visto que o funcionamento cerebral intrínseco encontra-se preservado ou reestabelecido após a abstinência.

A análise de componentes independentes (ICA) derivou mapas de redes que se demonstraram similares, mas não exatamente idênticos, quando comparados aos mapas de correlação de conectividade pelo método *seed based*⁷². O ICA fornece uma conectividade funcional global, permitindo decompor-se a conectividade funcional total em conectividades dentro de cada rede e entre pares de redes, enquanto que a análise *seed based* fornece uma única métrica da conectividade funcional⁷². Assim, a correlação *seed based* fornece a conectividade entre quaisquer dois *voxels* síncronos, independentemente da sua ligação às redes a que estão intrinsecamente relacionados⁷².

No presente estudo, a análise de correlação *seed based* foi derivada dos dados pré-processados por meio de ICA, incluindo a redução de dimensionalidade e remoção de ruídos, ao invés do típico pré-processamento utilizado para uma análise dessa modalidade. Essa abordagem parece prover não exatamente a mesma, porém uma conectividade funcional muito próxima daquela observada pela análise da rede intrínseca por ICA no estado de repouso⁷². Através dessa análise de correlação *seed based*, uma maior negatividade foi encontrada na conectividade entre o vACC e o lobo parietal superior esquerdo em usuários de crack.

Essa área cerebral, correspondendo à área 5 de Brodmann, está situada imediatamente posterior às áreas somatossensoriais (giro pós-central) e anteriormente à área 7 de Brodmann. Ela é citoarquiteturalmente limitada, caudalmente, pela área pós-central 2, superiormente pela área parietal 7 e medialmente pela área gigantopiramidal 4 e área do cíngulo posterior dorsal 31⁷³.

Assim, ela pode pertencer à porção posterior do DMN, mas é também possível que faça parte de outras redes de repouso considerando as funções a ela atribuídas.

Funcionalmente, o lobo parietal superior está relacionado a imaginação motora, manipulação bimanual e habilidades práticas similares, podendo ainda participar de um circuito subjacente ao aprendizado motor. Mas também tem sido relacionado à percepção dolorosa, atenção visuomotora, compreensão de palavras, processamento da linguagem, memória de trabalho e funções executivas⁷⁴.

Curiosamente, uma maior negatividade foi reportada em adultos com Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) na região do pré-cúneo quando comparado a controles não doentes pareados por idade⁷⁵. De acordo com Castellanos *et al*, a força da conectividade funcional entre as porções anterior e posterior do DMN parece estar relacionada à performance da memória executiva⁷⁵.

Já foi demonstrado que o lobo parietal superior é necessário para o rearranjo executivo da informação na memória de trabalho⁷⁶, assim o comprometimento da conectividade entre a região frontal medial e o lobo parietal superior aqui observado em usuários de crack pode ser estritamente relacionado às disfunções executivas severas usualmente apresentadas por esses indivíduos⁷⁷, uma condição que agrava e mantém a dependência química⁷⁹⁻⁸¹.

5 - CONCLUSÕES

Em resumo, nesse estudo exploratório a conectividade funcional global do DMN analisada por ICA mostrou-se preservada em dependentes de crack em abstinência por ao menos quatro semanas quando comparados a controles não usuários pareados por idade. Entretanto, o lobo parietal superior esquerdo foi correlacionado mais negativamente ao vACC nos usuários de crack comparado aos controles quando uma análise de correlação *seed based* da conectividade funcional foi executada. Esses resultados sugerem que embora o DMN não estivesse globalmente afetado, uma conectividade funcional seletiva nessa região pode estar comprometida na dependência de crack.

Embora tentador, esse resultado deve ser analisado com grande cautela e necessita de ser confirmado em uma amostra maior, especialmente devido à menor conectividade funcional observada no presente estudo quando o vACC foi centrado como ROI se comparado com a conectividade mais ampla quando o PCC foi centrado como a região de interesse. Além disso, a veracidade da “negatividade” entre relações de redes é altamente incerta e ainda é objeto de debates extensos⁷⁹.

A possibilidade de recuperação das funções cognitivas primitivas indica um prognóstico animador no que diz respeito ao tratamento da dependência química, sinalizando que tais indivíduos, mesmo quando da utilização de uma droga sabidamente devastadora como o crack, podem ser recuperados do ponto de vista clínico.

Existem limitações importantes no presente estudo que merecem ser mencionadas. Dados de um pequeno número de pacientes com qualidade de imagem adequadas foram incluídos no trabalho. Embora dados de uma amostra muito maior tivessem sido coletados, muitos precisaram ser excluídos por questões técnicas, como artefatos (especialmente na aquisição com 3,0T), e altos índices de movimento de cabeça. Além disso, os dados adquiridos nos aparelhos de 1,5T e 3,0T não puderam ser analisados de forma conjunta devido a diferenças nos parâmetros de aquisição.

Entretanto, ambas as análises conduzidas separadamente foram consistentes em mostrar ausência de alterações no DMN de usuários de crack incluídos no estudo. Este estudo, ainda, focou em analisar o DMN como principal rede de interesse no estado de repouso. Outras redes em estado de repouso estão no momento sob análise e serão descritas em um futuro próximo.

6 - REFERÊNCIAS

1. Duailibi LB, Ribeiro M, Laranjeira RR. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2008;24(4):545-57.
2. Marques ACPR, Ribeiro M, Laranjeira RR, Andrada NC. Abuso e dependência: crack. *Rev. Assoc. Med. Bras*. 2012 Apr; 58(2): 138-40.
3. Sogomonian R, Alkhawam H, Gandhi V, Zaiem F, Moradoghli Haftevani EA, McGarry T. Refractile foreign material deposits and alveolar hemorrhage in crack cocaine smoker. *Respir Med Case Rep*. 2015;16:48-50.
4. Yur'yev A, Akerele E. Socio-demographic Characteristics of Individuals with History of Crack Cocaine Use in the US General Population. *Community Ment Health J*. 2015.
5. Oliveira LG, Ponce Jde C, Nappo SA. Crack cocaine use in Barcelona: a reason of worry *Subst Use Misuse*. 2010;45(13):2291-300.
6. Paquette C, Roy E, Petit G, Boivin JF. Predictors of crack cocaine initiation among Montreal street youth: a first look at the phenomenon. *Drug Alcohol Depend*. 2010;110(1-2):85-91.
7. Nuijten M, Blanken P, van den Brink W, Hendriks V. Treatment of crack-cocaine dependence with topiramate: a randomized controlled feasibility trial in The Netherlands. *Drug Alcohol Depend*. 2014;138:177-84.
8. Fischer B, Blanken P, Da Silveira D, Gallassi A, Goldner EM, Rehm J, et al. Effectiveness of secondary prevention and treatment interventions for crack-cocaine abuse: A comprehensive narrative overview of English-language studies. *The International journal on drug policy*. 2015;26(4):352-63.

9. Schifano F, Corkery J. Cocaine/crack cocaine consumption, treatment demand, seizures, related offences, prices, average purity levels and deaths in the UK (1990 - 2004). *J Psychopharmacol*. 2008;22(1):71-9.
10. Nassif Filho ACN, Bettega SG, Lunedo S, Maestri JE, Gortz F. Repercussões otorrinolaringológicas do abuso de cocaína e/ou crack em dependentes de drogas. *Rev. Assoc. Med. Bras*. 1999 Jul;45(3):237-41.
11. Batista EK, Klauss J, Fregni F, Nitsche MA, Nakamura-Palacios EM. A Randomized Placebo-Controlled Trial of Targeted Prefrontal Cortex Modulation with Bilateral tDCS in Patients with Crack-Cocaine Dependence. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015;18(12).
12. de Souza CT, Diaz T, Suttmoller F, Bastos FI. The association of socioeconomic status and use of crack/cocaine with unprotected anal sex in a cohort of men who have sex with men in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2002;29(1):95-100.
13. Viola TW, Tractenberg SG, Levandowski ML, Pezzi JC, Bauer ME, Teixeira AL, et al. Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress. *J Psychiatry Neurosci*. 2014;39(3):206-14.
14. Nappo SA, Sanchez Z, De Oliveira LG. Crack, AIDS, and women in Sao Paulo, Brazil. *Subst Use Misuse*. 2011;46(4):476-85.
15. Editorial. Crack. *Lancet* 1987;2:1061-2.
16. Hatsukami DK, Fischman MW. Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA*. 1996;276(19):1580-8.
17. McClelland GT. The effects and management of crack cocaine dependence. *Nurs Times*. 2005;101(29):26-7.

18. Moura HF, Benzano D, Pechansky F, Kessler FH. Crack/cocaine users show more family problems than other substance users. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69(7):497-9.
19. Garcia RC, Dati LM, Torres LH, da Silva MA, Udo MS, Abdalla FM, et al. M1 and M3 muscarinic receptors may play a role in the neurotoxicity of anhydroecgonine methyl ester, a cocaine pyrolysis product. *Sci Rep*. 2015;5:17555.
20. Garcia RC, Dati LM, Fukuda S, Torres LH, Moura S, de Carvalho ND, et al. Neurotoxicity of anhydroecgonine methyl ester, a crack cocaine pyrolysis product. *Toxicol Sci*. 2012;128(1):223-34.
21. Kufahl PR, Li Z, Risinger RC, Rainey CJ, Wu G, Bloom AS, Li SJ. Neural responses to acute cocaine administration in the human brain detected by fMRI. *Neuroimage*. 2005;28(4):904-14.
22. Yuan K, Qin W, Liu J, Guo Q, Dong M, et al. Altered small-world brain functional networks and duration of heroin use in male abstinent heroin-dependent individuals. *Neuroscience Letters*. 2010;477:37-42.
23. Aguirre GK, Detre JA, Alsop DC, D'Esposito M. The parahippocampus subserves topographical learning in man. *Cereb. Cortex*. 1996;6:823-9.
24. Kelly C, Zuo XN, Gotimer K, Cox CL, Lynch L, Brock D, Imperati D, Garavan H, Rotrosen J, Castellanos FX, Milham MP. Reduced Interhemispheric Resting State Functional Connectivity in Cocaine Addiction. *Biological Psychiatry*. 2011;69(7):684-92.
25. Zago-Gomes MP, Nakamura-Palacios EM. Cognitive components of frontal lobe function in alcoholics classified according to Lesch's typology. *Alcohol and alcoholism*. 2009;44(5):449-57.
26. Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *PNAS*. 2001;98(2):676-82.

27. Meunier D, Ersche KD, Craig KJ, Fornito A, Merlo-Pich E, Fineberg NA, Shabbir SS, Robbins TW, Bullmore ET. Brain functional connectivity in stimulant drug dependence and obsessive-compulsive disorder. *Neuroimage*. 2012;59:1461-8.
28. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8:700-11.
29. Lu H, Stein EA. Resting state functional connectivity: Its physiological basis and application in neuropharmacology. *Neuropharmacology*. 2014;84:79-89.
30. Ma N, Liu Y, Fu XM, Li N, Wang CX, Zhang H, Qian RB, Xu HS, Hu X, Zhang DR. Abnormal brain default-mode network functional connectivity in drug addicts. *Plos One* 6: e16560.
31. Bechara A. Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: a neurocognitive perspective. *Nat Neurosci*. 2005;8:1458-63.
32. Garavan H, Hester R. The role of cognitive control in cocaine dependence. *Neuropsychology Review*. 2007;17:337-45.
33. Camchong J, MacDonald AW, Nelson B, Bell C, Mueller BA, Specker S, Lim KO. Frontal hyperconnectivity related to discounting and reversal learning in cocaine subjects. *Biol. Psychiatry*. 2011;69:1117-23.
34. Gu H, Salmeron BJ, Ross TJ, Geng X, Zhan W, Stein EA, Yang Y. Mesocorticolimbic circuits are impaired in chronic cocaine users as demonstrated by resting-state functional connectivity. *Neuroimage*. 2010;53:593-601.
35. Khalili-Mahani N, Zoethout RM, Beckmann CF, Baerends E, Kam ML, Soeter RP, Dahan A, van Buchem MA, van Gerven JM, Rombouts SA. Effects of morphine and alcohol on functional brain connectivity during “resting state”: a placebo-controlled crossover study in healthy young men. *Hum. Brain Mapp*. 2012;33:1003-18.

36. McKiernan KA, Kaufman JN, Kucera-Thompson J, Binder JR. A parametric manipulation of factors affecting task-induced deactivation in functional imaging. *J Cogn Neurosci*. 2003;15(3):394-408.
37. Tanabe J, Nyberg E, Martin LF, Martin J, Cordes D, Kronberg E, Tregellas JR. Nicotine effects on default mode network during resting state. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;216(2):287-95.
38. Ma N, Liu Y, Li N, Wang CX, Zhang H, Jiang XF, et al. Addiction related alteration in resting-state brain connectivity. *Neuroimage*. 2010;49(1):738-44.
39. Goldstein RZ, Volkow ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: Neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *American Journal of Psychiatry*. 2002;159:1642-52.
40. Lebbby PC. *Brain Imaging: A Guide for Clinicians*. New York: Oxford University Press;2013:188-9.
41. Bitar R, Leung G, Perng R, Tadros S, Moody AR, Sarrazin J, et al. MR pulse sequences: what every radiologist wants to know but is afraid to ask. *Radiographics*. 2006;26(2):513-37.
42. Lee MH, Smyser CD, Shimony JS. Resting-state fMRI: a review of methods and clinical applications. *AJNR Am. J. Neuroradiol*. 2013;34:1866-72.
43. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *MagnReson Med*. 1995;34(4):537-41.
44. Wang Z, Suh J, Li Z, Li Y, Franklin T, O'Brien C, Childress AR. A hyper-connected but less efficient small-world network in the substance-dependent brain. *Drug Alcohol Depend*. 2015;152:102-8.

45. Wisner KM, Patzelt EH, Lim KO, MacDonald III AW. An intrinsic connectivity network approach to insula-derived dysfunctions among cocaine users. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2013;39(6):403-13.
46. Bednarski SR, Zhang S, Hong KI, Sinha R, Rounsaville BJ, Li CSR. Deficits in default mode network activity preceding error in cocaine dependent individuals. *Drug and Alcohol Dependence*. 2011;119:51-7.
47. Murnane KS, Gopinath KS, Maltbie E, Daunais JB, Telesford QK, Howell LL. Functional connectivity in frontal-striatal brain networks and cocaine self-administration in female rhesus monkeys. *Psychopharmacology*. 2015;232:745-54.
48. Guo W, Liu F, Dai Y, Jiang M, Zhang J, Yu L, Long L, Chen H, Gao Q, Xiao C. Decreased interhemispheric resting-state functional connectivity in first-episode, drug-naive major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2013;41:24-9.
49. Rajpoot K, Riaz A, Majeed W, Rajpoot N. Functional connectivity alterations in epilepsy from resting-state functional MRI. *PLoS One*. 2015;10(8):e0134944.
50. Woolrich MW, Jbabdi S, Patenaude B, Chappell M, Makni S, Behrens T, Beckmann C, Jenkinson M, Smith SM. Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL. *Neuroimage*. 2009;45(1 Suppl):173-86.
51. Beckmann CF. Modelling with independent components. *Neuroimage*. 2012;62(2):891-901.
52. Beckmann CF, Smith SM. Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Trans Med Imaging*. 2004;23(2):137-52.

53. Rytty R, Nikkinen J, Paavola L, Abou Elseoud A, Moilanen V, Visuri A, et al. GroupICA dual regression analysis of resting state networks in a behavioral variant of frontotemporal dementia. *Front Hum Neurosci.* 2013;7:461.
54. Filippini N, MacIntosh BJ, Hough MG, Goodwin GM, Frisoni GB, Smith SM, et al. Distinct patterns of brain activity in young carriers of the APOE-epsilon4 allele. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(17):7209-14.
55. Smith DV, Utevsky AV, Bland AR, Clement N, Clithero JA, Harsch AE, et al. Characterizing individual differences in functional connectivity using dual-regression and seed-based approaches. *Neuroimage.* 2014;95:1-12.
56. Sutherland MT, McHugh MJ, Pariyadath V, Stein EA. Resting state functional connectivity in addiction: Lessons learned and a road ahead. *Neuroimage.* 2012;62(4):2281-95.
57. Wong CW, Olafsson V, Tal O, Liu TT. Anti-correlated networks, global signal regression, and the effects of caffeine in resting-state functional MRI. *Neuroimage.* 2012;63(1):356-64.
58. Tal O, Diwakar M, Wong CW, Olafsson V, Lee R, Huang MX, et al. Caffeine-Induced Global Reductions in Resting-State BOLD Connectivity Reflect Widespread Decreases in MEG Connectivity. *Front Hum Neurosci.* 2013;7:63.
59. Upadhyay J, Maleki N, Potter J, Elman I, Rudrauf D, Knudsen J, et al. Alterations in brain structure and functional connectivity in prescription opioid-dependent patients. *Brain.* 2010;133(Pt 7):2098-114.
60. Qiu YW, Han LJ, Lv XF, Jiang GH, Tian JZ, Zhuo FZ, et al. Regional homogeneity changes in heroin-dependent individuals: resting-state functional MR imaging study. *Radiology.* 2011;261(2):551-9.
61. Liang X, He Y, Salmeron BJ, Gu H, Stein EA, Yang Y. Interactions between the salience and default-mode networks are disrupted in cocaine addiction. *J Neurosci.* 2015;35(21):8081-90.

62. Ding X, Lee SW. Cocaine addiction related reproducible brain regions of abnormal default-mode network functional connectivity: a group ICA study with different model orders. *Neurosci Lett*. 2013;548:110-4.
63. Zaparte A, Viola TW, Grassi-Oliveira R, da Silva Morrone M, Moreira JC, Bauer ME. Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232(8):1405-13.
64. Shulman GL, Fiez JA, Corbetta M, Buckner RL, Miezin FM, Raichle ME, et al. Common Blood Flow Changes across Visual Tasks: II. Decreases in Cerebral Cortex. *J Cogn Neurosci*. 1997;9(5):648-63.
65. Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(1):253-8.
66. Raichle ME. The brain's default mode network. *Annu Rev Neurosci*. 2015;38:433-47.
67. Boveroux P, Bonhomme V, Boly M, Vanhaudenhuyse A, Maquet P, Laureys S. Brain function in physiologically, pharmacologically, and pathologically altered states of consciousness. *Int Anesthesiol Clin*. 2008;46(3):131-46.
68. Vanhaudenhuyse A, Noirhomme Q, Tshibanda LJ, Bruno MA, Boveroux P, Schnakers C, et al. Default network connectivity reflects the level of consciousness in non-communicative brain-damaged patients. *Brain*. 2010;133(Pt 1):161-71.
69. Greicius MD, Kiviniemi V, Tervonen O, Vainionpaa V, Alahuhta S, Reiss AL, et al. Persistent default-mode network connectivity during light sedation. *Hum Brain Mapp*. 2008;29(7):839-47.
70. Buckner RL, Vincent JL. Unrest at rest: default activity and spontaneous network correlations. *Neuroimage*. 2007;37(4):1091-6; discussion 7-9.

71. Boly M, Tshibanda L, Vanhaudenhuyse A, Noirhomme Q, Schnakers C, Ledoux D, et al. Functional connectivity in the default network during resting state is preserved in a vegetative but not in a brain dead patient. *Hum Brain Mapp.* 2009;30(8):2393-400.
72. Joel SE, Caffo BS, van Zijl PC, Pekar JJ. On the relationship between seed-based and ICA-based measures of functional connectivity. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine.* 2011;66(3):644-57.
73. Brodmann K, Gary LJ. Brodmann's localization in the cerebral cortex : the principles of comparative localisation in the cerebral cortex based on cytoarchitectonics. New York, NY: Springer; 2006. xv, 298 p. p.
74. Cortical Functions. Wanchai, Hong Kong 2012. 61 p.
75. Castellanos FX, Margulies DS, Kelly C, Uddin LQ, Ghaffari M, Kirsch A, et al. Cingulate-precuneus interactions: a new locus of dysfunction in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry.* 2008;63(3):332-7.
76. Koenigs M, Barbey AK, Postle BR, Grafman J. Superior parietal cortex is critical for the manipulation of information in working memory. *J Neurosci.* 2009;29(47):14980-6.
77. Fein G, Di Sclafani V, Meyerhoff DJ. Prefrontal cortical volume reduction associated with frontal cortex function deficit in 6-week abstinent crack-cocaine dependent men. *Drug Alcohol Depend.* 2002;68(1):87-93.
78. Goldstein RZ, Volkow ND. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci.* 2011;12(11):652-69.
79. Cole DM, Smith SM, Beckmann CF. Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state FMRI data. *Frontiers in systems neuroscience.* 2010;4:8.

80. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(1):217-38.
81. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Tomasi D. Addiction circuitry in the human brain. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2012;52:321-36.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Objetivos da pesquisa

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa sobre “**Ressonância Magnética Funcional em Estado de Repouso (*Resting state f-MRI*) em pacientes usuários de crack internados para tratamento da dependência química**”, que está sendo conduzida no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM). Esta pesquisa tem como objetivo analisar imagens de exames de ressonância magnética em paciente usuários de crack (casos) e em pacientes não usuários desta droga (controles), estes últimos servindo como parâmetro de comparação.

Procedimentos

Caso você concorde em participar deste estudo, você será submetido(a) a um exame de ressonância magnética de crânio. Estes exames (laudo e imagens) serão armazenados e poderão ser utilizados em estudos futuros, guardados os preceitos éticos e o caráter confidencial das informações.

Você responderá a um questionário padronizado contendo informações sobre idade, escolaridade, trabalho, família e uso de drogas, lícitas ou ilícitas, dentre outros.

Local do Estudo

Será agendado, de acordo com a agenda do serviço e juntamente com sua conveniência, o melhor horário para os exames de ressonância magnética e a entrevista, no serviço de radiologia do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes.

Custos para os Entrevistados e liberdade para retirar o seu consentimento

Não haverá ônus quaisquer e você poderá desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento.

Benefícios

Os resultados desta pesquisa trarão informações importantes a respeito das alterações cerebrais que estão presentes em usuários de crack, e as descobertas associadas aos resultados desta pesquisa poderão ser publicadas em jornais e revistas da área médica, assim como serem utilizadas na elaboração da tese de mestrado de um dos pesquisadores.

Caráter Confidencial dos Dados

As informações desta pesquisa serão mantidas em local reservado, garantindo o aspecto confidencial. Somente os pesquisadores terão acesso às informações e questionários. Os dados deste estudo poderão ser discutidos com outros pesquisadores, mas nenhuma identificação dos participantes será fornecida. Os resultados deste estudo serão publicados, mas nenhuma identificação dos participantes será fornecida.

Consentimento

Tendo recebido todos os esclarecimentos necessários, **CONSINTO** em participar deste estudo.

Nome Completo do Voluntário

Idade

CPF

Assinatura do Voluntário

Nome Completo do Entrevistador

Assinatura do Entrevistador

Vitória, _____ de _____ de 201____

APÊNDICE B – Instrumento de Avaliação Clínica

Data da coleta dos dados: ____ / ____ / ____

1. DADOS SOCIO-DEMOGRÁFICOS

Nome: _____ Nº do prontuário: _____

Data de Nascimento: ____ / ____ / ____ Idade: _____ Sexo: () M () F

Cor ou raça: (1) Branca (2) Parda (3) Amarela (4) Preta (5) NR

Escolaridade: (1) EFI (2) EFC (3) EM (4) ES (5) NS/NR

Profissão: _____

Situação Trabalhista: (1) Com Carteira de Trabalho Assinada (2) Sem Carteira de Trabalho assinada (3) Aposentado (4) Autônomo (5) Desempregado (6) NR (7) Auxílio-Doença

Renda Familiar Média: (1) Até 1 salário mínimo (2) 1 a 5 S.M. (3) 5 a 9 S.M. (4) 9 a 20 S.M. (5) > 20 S.M. (6) NS/NR

Estado Civil: (1) Solteiro (2) União estável (3) Separado (4) Viúvo (5) NR

Município: (1) Vitória (2) Viana (3) Vila Velha (4) Cariacica (5) Serra (6) Guarapari (7) Outros (8) NR

Com quem vive atualmente: (1) Companheiro (2) Companheiro e filhos (3) Familiares (4) Amigos (5) Sozinho (6) NR (7) Outros

Nº de pessoas que moram na mesma residência: _____ Telefone: _____

2. ANAMNESE

Possui comorbidades? (1) Sim. Quais? _____ (2) Não (3) NR

Possui claustrofobia? (1) Sim (2) Não História de alergia a contraste? (1) Sim (2) Não (3) NR

Próteses metálicas no corpo? (1) Sim. Quais? _____ (2) Não (3) NR

Infância: (1) Normal (2) Anormal Qual? _____ (3) NR

Situação no ensino fundamental: (1) normal (2) anormal Qual? _____ (3) NR

Amigos: (1) Sim (2) Não (3) NR

Quadros psiquiátricos na infância e adolescência: (1) Sim Qual? _____ (2) Não (3) NR

Faz uso de álcool? (1) Sim (2) Não (3) NR

Idade do início do uso: _____ Data Última ingestão: _____

Bebida mais utilizada: _____ Qtde. por dia (média): _____

Usa drogas ilícitas? (1) Sim (2) Não (3) NR Quais? _____

Idade do início do uso: _____ Data Última ingestão: _____

Droga mais utilizada: _____ Qtde. por dia (média): _____

Faz uso de tabaco? (1) Sim (2) Não (3) NR

Idade do início do uso: _____ Data Última ingestão: _____

Tipo de cigarro mais utilizado: _____ Qtde. por dia (média): _____

Pesquisador: _____

ANEXO A – DSM-IV & DSM-IV-TR: Critérios para dependência

Dependência: um padrão mal adaptativo de uso de substância, levando a prejuízos clinicamente significantes ou ao desconforto (“*distress*”), manifestado por três (ou mais) dos seguintes itens, ocorrendo em um período de 12 meses:

1. Tolerância, definido por: a) uma necessidade de quantidades marcadamente aumentadas da substância para atingir intoxicação ou o efeito desejado; b) efeito marcadamente diminuído com o uso continuado da mesma quantidade da substância.	
2. Abstinência, manifestada pelos seguintes sintomas: a) síndrome de abstinência característica para a substância (critérios A e B específicos estabelecidos para a substância). b) a mesma substância (ou uma muito próxima) é tomada para aliviar ou evitar os sintomas de abstinência.	
3. A substância é frequentemente ingerida em quantidades maiores ou em um período maior que o pretendido.	
4. Há um desejo persistente ou esforços sem sucesso para interromper ou controlar o uso da substância.	
5. Um tempo muito grande é gasto em atividades necessárias para se obter a substância (p.ex., visitas a múltiplos médicos, ou dirigir longas distâncias), para o uso da substância (p.ex., corrente de fumo), ou para se recuperar de seus efeitos.	
6. Atividades sociais, ocupacionais, ou recreacionais importantes são desistidas ou reduzidas por causa da substância.	
7. O uso da substância é continuada a despeito do conhecimento de haver problemas físicos ou psicológicos persistentes ou recorrente que parecem ter sido causados ou exacerbados pela substância (p.ex., uso da cocaína apesar de reconhecer a depressão induzida pela droga, ou uso continuado do beber apesar de reconhecer que uma úlcera pode ser piorada pelo consumo do álcool).	
<p>Especificar se:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Com dependência fisiológica: evidência de tolerância ou abstinência (i.e., ambos os itens 1 e 2 estão presentes); - Sem dependência fisiológica: nenhuma evidência de tolerância ou abstinência (i.e., nenhum dos itens 1 e 2 estão presentes). 	

**ANEXO B – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em
Pesquisa (CEP)**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Neuromodulação do Córtex Pré-Frontal Dorsolateral por Estimulação Cerebral Transcraniana por Corrente Contínua de Baixa Intensidade (ETCC) em Pacientes Internados para Tratamento Intensivo da Dependência Química.

Pesquisador: Ester Miyuki Nakamura Palacios

Área Temática: Área 4. Equipamentos, insumos e dispositivos para saúde novos, ou não registrados no país.

Versão: 1

CAAE: 13528213.2.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde ((CCS-UFES))

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 237.231

Data da Relatoria: 27/03/2013

Apresentação do Projeto:

Em um estudo anterior os proponentes verificaram que uma única exposição à estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) anódica de baixa intensidade sobre o CPFDL esquerdo melhorou, ainda que sutilmente, a função frontal de alcoolistas do tipo IV de Lesch. Também verificaram que a sua aplicação repetida (ETCC anódica, 2 mA durante 20 min, uma vez por semana, por cinco semanas consecutivas) tendeu a melhorar a função frontal, reduziu significativamente os sintomas de depressão, mas aumentou os índices de recaídas ao uso de álcool em alcoolistas do tipo IV de Lesch. Por outro lado, a ETCC bilateral (catódica sobre o CPFDL esquerdo e anódica sobre o CPFDL direito, duas aplicações de 2mA de 13 min com intervalo de 20 min, diária por cinco dias consecutivos) reduziu, ainda que não de forma estatisticamente significativa, as recaídas ao uso do álcool em alcoolistas de todos os tipos mas não modificou a função frontal e outras respostas clínicas. Adicionalmente, a estimulação bilateral (catódica CPFDL esquerdo e anódica CPFDL direita, 2 mA durante 20 min, uma aplicação a cada dois dias no total de cinco aplicações) reduziu o índice de recaídas ao uso de crack em dependentes severos comparado ao tratamento sham-ETCC, porém sem modificar as funções frontais e outras respostas clínicas. Apesar destes resultados se mostrarem promissores, as

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Telefone: (27)3335-7211

Município: VITORIA

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE/UFES



amostras dos pacientes, especialmente de usuários de crack, foram bastante pequenas devido à dificuldade, não tanto de recrutamento, mas de aderência ao tratamento clínico de base e subsequentemente do tratamento proposto em nossos estudos (apenas 21 a 30% dos usuários elegíveis que aceitam participar do estudo comparecem e/ou aderem ao tratamento até o final). Desta forma, para reduzirmos as perdas por abandono de tratamento que é característico dos atendimentos ambulatoriais, daremos continuidade a estas investigações em pacientes internados para tratamento intensivo de dependência química em clínicas especializadas, em dois ensaios clínicos no qual investigaremos o potencial uso da neuromodulação cognitiva induzida pela ETCC no tratamento da dependência química, mais especificamente do alcoolismo e da dependência ao crack.

Objetivo da Pesquisa:

Examinar os potenciais efeitos neuromodulatórios da estimulação elétrica transcraniana por corrente contínua de baixa intensidade repetida sobre o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo e direito no tratamento (Estudo 1) da dependência ao álcool e (Estudo 2) da dependência ao crack-cocaína, em pacientes internados em clínicas especializadas no tratamento intensivo da dependência química.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: As aplicações de estimulação elétrica transcraniana de baixa intensidade e o procedimento de simulação são de baixo risco. A estimulação elétrica pode, raramente, produzir uma leve tontura, e reações (feridas leves) na pele no local da aplicação do estímulo.

Benefícios: A estimulação elétrica transcraniana por corrente contínua de baixa intensidade é uma técnica indolor de baixo custo e sendo aplicado sobre o córtex pré-frontal dorsolateral poderá melhorar a capacidade da memória operacional e por conseguinte das funções executivas em dependentes químicos, podendo favorecer o tratamento da dependência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

adequadamente desenhada e relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

presentes e adequados.

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Telefone: (27)3335-7211

Município: VITORIA

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES



Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

VITORIA, 04 de Abril de 2013

Assinador por:
DANIELLE CABRINI MATTOS
(Coordenador)

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

**ANEXO C – Comprovante de submissão do *paper* na revista
*Psychiatry Research: Neuroimaging***

----- Forwarded message -----

From: **Psychiatry Research: Neuroimaging** <EviseSupport@elsevier.com>

Date: 2016-05-08 19:43 GMT-03:00

Subject: Submission PSYN_2016_96 received by Psychiatry Research: Neuroimaging

To: emnpalacios@gmail.com

This message was sent automatically. Please do not reply.

Ref: PSYN_2016_96

Title: The Default Mode Network extrinsic functional connectivity may be affected in crack-cocaine users

Journal: Psychiatry Research: Neuroimaging

Dear Dr. Palacios,

Thank you for submitting your manuscript for consideration for publication in Psychiatry Research: Neuroimaging. Your submission was received in good order.

To track the status of your manuscript, please log into EVISE® at:

http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=PSYN and locate your submission under the header 'My Submissions with Journal' on your 'My Author Tasks' view.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Psychiatry Research: Neuroimaging

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our [Customer Support](#) site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

Copyright © 2016 Elsevier B.V. | [Privacy Policy](#)

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.

Manuscript Details

Manuscript number	PSYN_2016_96
Title	The Default Mode Network extrinsic functional connectivity may be affected in crack-cocaine users
Article type	Full Length Article

Abstract

Decreased functional connectivity has been described in psychostimulants users and also in addicted to depressant drugs, but there are no study investigating the Default Mode Network (DMN) in crack-cocaine dependents. This study aimed to explore the DMN functional connectivity in crack-cocaine users comparing to age-matched non-addicted controls. Inpatient crack-cocaine users in abstinence for at least four weeks and age-matched non-addicted controls underwent to resting state functional Magnetic Resonance Imaging (rs-fMRI) acquired when they rested with eyes closed. After data preprocessing, DMN were defined by spatial independent component analysis (ICA) and seed-based correlation analysis, by chosen regions of interest centered in the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC) and in the Posterior Cingulate Cortex (PCC). The DMN functional connectivity searched by ICA was not different between crack-cocaine users and age-matched controls. However, the seed-based correlation analysis searching for a single metric functional connectivity between specific brain regions showed significantly greater negativity of the connectivity between the vACC and the superior parietal lobe when compared to age-matched controls. These results suggest that selective default mode network extrinsic network connectivity related to motor and executive function may be compromised in crack-cocaine addiction.

Keywords	drug addiction; resting-state fMRI; independent component analysis; seed-based analysis; functional connectivity.
Corresponding Author	Ester Palacios
Corresponding Author's Institution	Federal University of Espírito Santo
Order of Authors	Diego Martins, Talles Valiatti, Júlia D'Ávila, Lucas Ferreira, Andre Ferreira, Jaisa Klauss, Edson Batista, Paulo Bazán, Rodrigo Souza, Ester Palacios
Suggested reviewers	Jorge Moll, Michael Nitsche, Fernanda Moll, Ronaldo Laranjeira, Emerson Gasparetto

Submission Files Included in this PDF

File Name [File Type]

cover letter.doc [Cover Letter]

Highlights.docx [Highlights]

Title page.docx [Title Page (with Author Details)]

Martins et al 2016_without title page.docx [Manuscript File]

Table 1.docx [Table]

Table 2.docx [Table]

Table 3.docx [Table]

Figure 1.tif [Figure]

Figure 2.tif [Figure]

Figure 3.tif [Figure]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.



**Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Universidade Federal do Espírito Santo
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

Vitória-ES, 8 May 2016.

Ref: Manuscript submission

Dear Editor,
Psychiatry Research: Neuroimaging

We hereby submit our manuscript entitled “*The Default Mode Network extrinsic functional connectivity may be affected in crack-cocaine users*” under the type of *full length article*. This study provides evidence for default mode network functional connectivity in crack-cocaine users.

Corresponding Author: Dr. Ester M Nakamura-Palacios, Telephone: + 55(27)3335-7389, Fax: +55(27) 3335-7330, E-mail: emnpalacios@gmail.com

Research protocols originating the data present in this manuscript were approved by our institution's ethics committee and was performed in accordance with the ethical standards of the 1964 Declaration of Helsinki. This study is part of a project registered under Clinical Trials.gov numbers NCT02091167.

This manuscript has not been published or submitted for publication elsewhere. In case of acceptance of this manuscript for publication, the author grants *Psychiatry Research: Neuroimaging* the exclusive right, for the full term of copyright and any renewals/extensions thereof, both to reproduce and/or distribute our article (in whole or in part) throughout the world in printed, electronic or any other medium.

We certify that there were no affiliations with or involvement in any organization or entity with a direct financial interest in the subject matter or materials discussed in the manuscript (eg, employment, consultancies, stock ownership, honoraria, and expert testimony).

We hope that the paper meets the high standards of your journal. We are looking forward to hear from you at your earliest convenience.

Yours truly,

Ester M. Nakamura-Palacios, MD, PhD

Highlights

- Default Mode Network may be affected in drug addiction.
- Default Mode Network was investigated in crack-cocaine users.
- No differences from non-users were found by Independent Component Analysis.
- Greater anterior cingulate-parietal negativity was found in crack-cocaine users.
- A selective extrinsic connectivity seems compromised in crack-cocaine addiction.

Title: The Default Mode Network extrinsic functional connectivity may be affected in crack-cocaine users

Running title: DMN in crack-cocaine addiction

Authors: Diego Lima Nava Martins, MD^{a,b}; Talles Destefani de Souza Valiatti^{c,e}; Júlia D'Ávila^{c,e}; Lucas Freire Ferreira^{c,e}, Andre Ferreira, PhD^{c,e}; Jaisa Klauss, MSc^d; Edson Kruger Batista, MD, MSc^d; Paulo Rodrigo Bazán^f; Rodrigo Stênio Moll de Souza, MD, MSc^{a,e}; Ester Miyuki Nakamura-Palacios^{b,d,e,*}, MD, PhD

^aDepartment of Internal Medicine, Health Sciences Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil

^bGraduate Program in Medicine, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil

^cDepartment of Electric Engineering, Technological Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil

^dLaboratory of Cognitive Sciences and Neuropsychopharmacology, Graduate Program in Physiological Sciences, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil

^eBRAEN – Brazilian Research Group on Brain and Cognitive Engineering, Federal University of Espírito Santo, Vitória-ES, Brazil

^fNIF-LIM-44, Department of Radiology, Clinical Hospital of Medical School, University of São Paulo, São Paulo-SP, Brazil

***Corresponding Author:** Dr. Ester M Nakamura-Palacios, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos, 1468, 29.043-900 Vitória, ES, Brasil, Fax: + 55(27) 3335-7330, Tel: + 55(27) 3335-7337, E-mail: emnpalacios@gmail.com

Abstract

Decreased functional connectivity has been described in psychostimulants users and also in addicted to depressant drugs, but there are no study investigating the Default Mode Network (DMN) in crack-cocaine dependents. This study aimed to explore the DMN functional connectivity in crack-cocaine users comparing to age-matched non-addicted controls. Inpatient crack-cocaine users in abstinence for at least four weeks and age-matched non-addicted controls underwent to resting state functional Magnetic Resonance Imaging (rs-fMRI) acquired when they rested with eyes closed. After data preprocessing, DMN were defined by spatial independent component analysis (ICA) and seed-based correlation analysis, by chosen regions of interest centered in the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC) and in the Posterior Cingulate Cortex (PCC). The DMN functional connectivity searched by ICA was not different between crack-cocaine users and age-matched controls. However, the seed-based correlation analysis searching for a single metric functional connectivity between specific brain regions showed significantly greater negativity of the connectivity between the vACC and the superior parietal lobe when compared to age-matched controls. These results suggest that selective default mode network extrinsic network connectivity related to motor and executive function may be compromised in crack-cocaine addiction.

Key words: drug addiction; resting-state fMRI; independent component analysis; seed-based analysis; functional connectivity.

1. Introduction

Crack-cocaine emerged as a product that easily provides cocaine as the active principle through the smoke of burning rocks usually by means of smoking pipes (Duailibi et al., 2008). It started to be noticed over the 80's in the Western societies and gained the South America around the 90's (Duailibi et al., 2008; Dunn et al., 1996), and today its use has been expanding over countries of this region, but also has been emerging in many countries overseas (Fischer et al., 2015; Yur'yev and Akerele, 2015), especially because it is cheaper than cocaine hydrochloride (Fischer et al., 2015).

Its use has been persistently growing, especially among young people (Duailibi et al., 2008), but now reaching much younger individuals, children, and also adults and the elderly in our population. Besides, what was an occurrence in a population with low annual or monthly income and usually male (Batista et al., 2015; Duailibi et al., 2008; Yur'yev and Akerele, 2015), its use is reaching population with higher annual income and females (Nappo et al., 2011; Viola et al., 2014).

How crack-cocaine affects neural system is still unknown. However, there are neural circuitries supposedly involved in the establishment and/or maintenance of drug addiction (Koob and Volkow, 2010; Volkow et al., 2012). According to Volkow et al (2010) there are four interrelated circuits involved and/or affected in the drug addiction: (1) reward, involving several nuclei in the basal ganglia, notably the nucleus accumbens from ventral striatum, relaying information to the ventral pallidum; (2) motivation/drive, involving the orbitofrontal and subcallosal cortices, dorsal striatum and motor cortex; (3) learning and memory, involving the amygdala and the hippocampus; and (4) cognitive control and planning, involving the dorsolateral prefrontal cortex and anterior cingulate cortex and inferior frontal cortex.

Many of these brain structures are associated to the Default Mode Network (DMN) (Greicius et al., 2003; Raichle, 2015a; Raichle and Snyder, 2007), one of the brain networks seen in resting state Functional Magnetic Resonance Imaging (rs-fMRI) studies (Rosazza and Minati, 2011). The DMN is constituted by brain regions exhibiting synchronous low frequency oscillation during the resting state, which are typically deactivated during task demands (Raichle, 2015a; Raichle et al., 2001; Raichle and Snyder, 2007). It is believed that the DMN is related to attention and self-monitoring (Ma et al., 2011), or more precisely, the general monitoring of sensory information associated with the posterior cingulate and adjacent precuneus, and the evaluation of the salience of this information associated with medial and orbitofrontal cortices (Raichle et al., 2001), giving a new perspective in understanding the brain function by addressing the importance of ongoing or intrinsic activity (Raichle and Snyder, 2007).

Previous rs-fMRI studies found functional connectivity changes in drug abuse and drug addiction, such as for cocaine, heroin, morphine, nicotine, alcohol and caffeine, but there are still no studies with crack-cocaine addiction. Following these evidence, it is expected to hypothesize that DMN would be affected in crack-cocaine users. Therefore, this study was aimed to explore the DMN functional connectivity using ICA and seed-based correlation analysis on rs-fMRI data from crack-cocaine users and age-matched non-addicted controls.

2. Materials and Methods

2.1. Subjects

Thirty-eight crack-cocaine addicted subjects, as defined by the DSM-IV, from a Clinic for Drug Dependence Treatment from Espírito Santo state, Brazil, were

interviewed for this trial. 10 subjects recruited who met our inclusion criteria (see below), agreed to participate in this study and signed the informed consent.

The rs-fMRI data from these subjects was acquired in a 1.5 T scanner from the University Hospital Cassiano Antônio de Moraes from the Federal University of Espírito Santo. However, because of technical issues during the imaging acquisition, data from two subjects had to be excluded from the analysis. Therefore, from crack-cocaine users, data from eight subjects were included in all analysis.

The control group was constituted by healthy, non-drug users, males, and age-matched subjects, recruited among workers from both clinics (University Hospital and private clinic) and students from Federal University of Espírito Santo, which had their rs-fMRI acquired in the same scanner.

The inclusion criteria for this study were: (1) male patients over the age of 18 years; (2) met criteria for crack-cocaine dependence according to the *ICD-10 classification of mental and behavioral disorders* and the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition (DSM-IV)*, as determined by clinical evaluation; (3) in stable clinical condition with no need for inpatient care; (4) able to read, write, and speak Portuguese; and (5) no severe withdrawal signs or symptoms at baseline. Conversely, exclusion criteria included: (1) a condition of intoxication or withdrawal due to a substance other than crack-cocaine, (2) unstable mental or medical disorder or substance abuse or addiction other than crack-cocaine dependence, except nicotine and/or caffeine; (3) a diagnosis of epilepsy, convulsions, or *delirium tremens* during abstinence from crack-cocaine; (4) a previous history of drug hypersensitivity or adverse reactions to diazepam or other benzodiazepines and haloperidol; (5) any

contraindication for magnetic resonance procedures such as electronic implants, metal implants, claustrophobia, permanent make-up or tattoo received within the previous 3 months, (6) the presence of vascular, traumatic, inflammatory, or tumor injuries detectable by CT examination.

Ethical approval was provided by the Brazilian Institutional Review Board of the Federal University of Espírito Santo (CAAE 19403713.6.0000.5060 and 13528213.2.0000.5060), Brazil. The study was conducted in strict adherence to the Declaration of Helsinki and is in accordance with the ethical standards of the Committee on Human Experimentation of the Federal University of Espírito Santo, ES, Brazil, where this study was conducted. Subjects were fully informed about the experimental protocol and voluntarily signed an informed consent form before the start of the experiment.

2.2. Procedures

After having been informed of all procedures and given written informed consent, ten inpatients diagnosed with crack-cocaine dependence and under treatment in a specialized Clinic for Drug Dependence Treatment and eight non-users controls were subsequently assessed using the following tools.

2.2.1. Sociodemographic and Drug Use Characteristics.

A structure brief interview was conducted to obtain information regarding sociodemographic data and drug use characteristics of the study participants.

2.2.2. Magnetic Resonance Imaging

2.2.2.1. Scanning

The rs-fMRI was acquired while subjects rested quietly with eyes closed but awaked by Philips Achieva 1.5 T magnetic resonance scanners (Philips Medical Systems Nederland B.V., The Netherlands), with specific head coil model SENSE (8 channels), from the radiology center of the University Hospital Cassiano Antônio de Moraes from the Federal University of Espírito Santo.

Functional images were acquired using an EPI gradient echo sequence [repetition time (TR) = 3000 ms; echo time (TE) = 50 ms; flip angle = 90 degrees; 35 axial slices; matrix: 64 x 64; field of view (FOV) = 230 mm; voxel size 3.59×3.59×4.0 mm] with Echo Planar Imaging (EPI) factor of 39 and acquisition time of 10 min 9 s for each subject.

A T1-weighted anatomical image was also acquired for registration purposes (TR = 8.8 ms; TE = 4.05 ms; flip angle = 8 degrees; matrix: 240 x 240; voxel size : 1 x 1 x 1 mm; 180 axial slices; FOV = 240 mm; acquisition time = 1 min 28 s).

2.2.2.2. Data preprocessing

Functional images were pre and post-processed using FSL 5.0.8 (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>), a software library developed by members of the Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain – FMRI – Analysis Group, from Oxford University, UK. Briefly, traditional preprocessing steps were performed: head

motion, by realigning each volume to the middle volume; slice-timing correction; non-brain material extraction; spatial smoothing, using a 6 mm (full width at half maximum) kernel; high pass temporal filtering (0.01 Hz); and normalization to the Montreal Neurological Institute (MNI) 2 mm resolution template Standard Space. Additionally, in order to reduce physiological noise, tissue segmentation was carried using the structural T1-weighted images from each subject. The average white matter and the average cerebrospinal fluid signals were filtered using linear regression (the residuals of this analysis were used in the next steps) (Fig. 1).

2.2.2.3. Independent Component Analysis (ICA) and Dual Regression

Images were decomposed spatially and temporally in a 4d (time \times voxels) data matrix into a set of time courses and associated spatial maps using the Multivariate Exploratory Linear Decomposition into Independent Components (MELODIC) from FSL (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/melodic2/index.html) (Fig. 1). This instrument was used as a primary approach to objectively identify resting state networks, especially the DMN for this study purpose (Beckmann, 2012; Beckmann and Smith, 2004). Two separate group independent component analyses were performed concatenating the time series of the individuals in each group.

For dual regression analysis (Fig. 1), the set of spatial maps from the non-users control group ICA was used as the template according to Rytty et al (2013) to generate subject-specific versions of the spatial maps, and associated time series (Beckmann, 2012; Beckmann and Smith, 2004; Rytty et al., 2013; Smith et al., 2014) to test voxel-wise for group differences. A nonparametric test was adopted, using FSL's randomize

permutation-testing tool, calculating the maximum of 5,000 permutations with a threshold of $p = 0.05$ corrected for multiple comparisons across the whole brain.

2.2.2.4. Seed-based correlation analysis

This analysis employed the same input data as the ICA (Joel et al., 2011; Smith et al., 2014). The difference was that the present analysis was based on regions of interest (Fig. 1). The chosen regions of interest and their Talairach coordinates were based on those that Greicius et al (2003) defined as the main regions constituting the network of the default mode. Thus, two regions of interest (8 mm of diameter) were chosen, one centered in the posterior cingulate cortex (PCC: 2, -51, 27) and the other in the ventral anterior cingulate cortex (vACC: 2, 38, -2). For each participant, the signal extracted from these seed regions were inputted into two separate whole brain analysis (one for each seed), evaluating both positive and negative correlations. Correlation scores were converted to z-scores using the Fisher Z-transform. Group-level analyses were conducted using mixed-effects model implemented in FSL's FEAT tool, adopting a voxel threshold of $Z > 2.3$ and correcting for multiple comparisons at the cluster level using Gaussian random field theory with cluster significance threshold P-value of 0.05.

3. Results

3.1. Baseline Data

Baseline socio-demographic characteristics and patterns of drug use are presented in table 1.

Crack-cocaine subjects were young, all males, with an average of 29.1 years old (± 10.6 SD) (Tab. 1), generally low-educated (less than 3 years of education), mostly unemployed and single (Tab. 1). In addition, most of them were tobacco smokers (Tab. 1). Except for age and marital state, other characteristics, such as schooling, employment and tobacco use differed from non-addicted control group (Tab. 1). These differences were expected considering the unfortunate impoverishment due to the crack-cocaine addiction.

They started to use crack-cocaine on average at 22.6 (± 8.9 SD) years, consumed on average 14.8 (± 16.2 SD) rocks per day (Tab. 1), and they were above four weeks in abstinence before the beginning of the experimental protocol.

Patients were kept in a restrictive environment for drug use in the clinic they were under treatment. In spite of it, the presence of the drug was checked qualitatively in the urine in random intervals over the period of their treatment. All urine samples were found to be negative during the study period.

3.2. functional Magnetic Resonance Imaging

3.2.1. Independent Component Analysis (ICA)

The ICA applied to the rs-fMRI data satisfactorily determined the component with the default mode network individually in non-addicted control subjects and in crack-cocaine users and nicely provided the mean of each group.

The dual regression analyses considering the control group as the template and the further analyses through randomize permutation did not find any differences between groups in both scanners.

3.2.2. Seed-based correlation analysis

The activity in the vACC (centered at $x = 2$, $y = 38$, $z = -2$) was found to be positively related to the left middle temporal gyrus and the left medial frontal gyrus in the non-addicted control group (Fig. 2, Tab. 2); and to the left inferior temporal and the right dorsal anterior cingulate in the crack-cocaine users (Fig. 2, Tab. 2).

A positively correlated activity was observed between the ROI centered at the PCC (2, -51, 27) and the right middle temporal gyrus, the left superior frontal, the right middle frontal gyrus, and the left dorsal posterior cingulate in non-addicted control subjects (Fig. 2, Tab. 2); and the right middle temporal gyrus, the left medial frontal gyrus, the left angular gyrus, the left superior frontal gyrus, and the left dorsal posterior cingulate in crack-cocaine users (Fig. 2, Tab. 2).

No differences were found in the comparison between non-addicted controls and crack-cocaine users regarding positive correlations.

The vACC activity was negatively related to the left and right superior frontal gyrus, the right inferior semi-lunar lobe, the left superior parietal lobe, the left medial frontal gyrus and the superior parietal lobe in the non-addicted control group (Fig. 2, Tab. 3); and the PCC activity was negatively related to the left middle frontal gyrus, right superior frontal gyrus, the right and left inferior parietal lobe in the crack-cocaine group (Fig. 2, Tab. 3).

In addition, there was a statistically significant difference ($p < 0.0322$) for the vACC negative correlation with the region corresponding to the left superior parietal lobe (Brodmann area 5) in the comparison between groups, in which the correlation between the vACC and this region in the crack-cocaine group was greatly negative when compared to the non-addicted control group (Fig. 3, Table 3).

4. Discussion

Here we found a greater negative or antiphasic relation between the medial frontal site of the DMN and the superior parietal lobe through seed-based correlation analysis in crack-cocaine addicts abstinent for at least four weeks when comparing to age-matched non-users controls.

Exploring the DMN and its connectivity in drug addiction has been of great interest to help the better understanding of this complex disease (Sutherland et al., 2012). Studies employing resting state fMRI to investigate the effects and/or consequences of cocaine dependence show mixed results, from hyperconnectivity of the anterior cingulate cortex (Camchong et al., 2011) to decreases of connectivities (Gu et al., 2010; Liang et al., 2015) between DMN and other networks (Ding and Lee, 2013; Kelly et al., 2011).

All these studies were conducted with cocaine dependents that were currently using the drug or including cocaine dependents with a short period of abstinence. This is a condition very different from the present study, in which crack-cocaine users had their brain scanned for resting state fMRI under drug abstinence for at least four weeks because of the restricted environment in the clinic they were under treatment and

because they were allowed to clinically stabilize for acute abstinence, which is usually severe, before the beginning of any complex diagnosis and additional therapeutic procedures. This longer abstinence may have given the brain a chance for functional recovery of the DMN and its intrinsic connectivity was not affected or may have been affected mildly by crack-cocaine exposition and recovered after abstinence. In fact, it has been shown that after 18 days of abstinence, there was a recovery of oxidative stress damage and increased antioxidant defenses in female crack-cocaine inpatients (Zaparte et al., 2015).

The precise brain function supported by the DMN remains inconclusive. Greicius et al (2003) suggested that the retrieval and manipulation of episodic memories and semantic knowledge are likely candidates. According to Raichle (2015a), the DMN substantiates processes supporting emotional processing (ventral medial prefrontal cortex), self-referential mental activity (dorsal medial prefrontal cortex), and the recollection of prior experiences (posterior elements of the DMN).

Considering that the DMN has been defined as constituting a baseline brain activity, it may be involved in more fundamental brain function that cannot simply be a reflection of conscious mental activity, that is, it is involved in more intrinsic functional organization as suggested by Raichle & Snyder (2007). Because it is a restless brain function, according to Raichle (2015b), the DMN seems only to vary according to the level of consciousness (Boveroux et al., 2008; Vanhaudenhuyse et al., 2010), keeping active under mild sedation (Greicius et al., 2008) and anesthesia (Buckner and Vincent, 2007) and even in vegetative state (Boly et al., 2009), although with varying changes in its connectivity (Vanhaudenhuyse et al., 2010), but it is only completely absent in the brain death (Boly et al., 2009).

Therefore, it seems reasonable to consider that DMN would be highly affected only under extreme life-threatening condition, which fortunately may not be the case of our crack-cocaine users. It seems that the global DMN intrinsic connectivity of our young crack-cocaine users are still not affected when compared to age-matched non-users controls. That is, although the use of crack-cocaine is highly harmful to our young users in many senses, there still a hope for a full recovery as the intrinsic brain functioning is preserved or reestablished after abstinence.

The spatial independent component analysis (ICA) provides a global functional connectivity, allowing decomposing the total functional connectivity into connectivity within each network and connectivity between pair of networks, whereas seed based connectivity provides a single metric of the functional connectivity (Joel et al., 2011). Thus, the seed-based correlation gives the connectivity between any two synchronous voxels irrespective of their linkage to intrinsically related networks (Joel et al., 2011). Interestingly, in the present study, the seed-based correlation analysis showed a greater negativity in the connectivity between vACC and the left superior parietal lobe in crack-cocaine users.

This brain area, corresponding to the Brodmann area 5, is situated immediately posterior to the primary somatosensory areas (postcentral gyrus) and right anterior to the Brodmann area 7. It is cytoarchitecturally bounded by the caudal postcentral area 2, the superior parietal area 7 and medially by the gigantopyramidal area 4 and the dorsal posterior cingulate area 31 (Brodmann and Gary, 2006). It is possibly part of networks extrinsic to the DMN considering the functions that has been related to it. In fact, it has been functionally related to the processing tool-use gestures, motor imagery, bimanual manipulation, and similar praxic abilities, and may also participate in a circuit

underlying imitation of motor learning. It has been also related to pain perception, visuomotor attention, word comprehension, language processing and working memory and executive functions.

The superior parietal lobe has been proven to be necessary for the executive rearrangement of information in working memory (Koenigs et al., 2009), thus the impairment of the connectivity between the medial frontal region and the superior parietal lobe observed here in crack-cocaine users may be strictly related to the severe executive dysfunction usually seen in these subjects (Fein et al., 2002), a condition that aggravates and maintain the drug addiction (Goldstein and Volkow, 2011; Koob and Volkow, 2010; Volkow et al., 2012). Although tempting, this result needs to be taken with a great caution and needs to be confirmed in a larger sample, especially considering that the veracity of the “negativity” between network relationships is highly uncertain and is still a matter of vigorous debate (Cole et al., 2010).

There are important limitations in this study that have to be mentioned. Data from small number of subjects with adequate imaging quality was included in this study. Although data from a larger sample was collected, many of them had to be excluded because of technical issues, such as artifacts and large head movements. This study was only focused in the analysis of the DMN as the principal resting state network of our interest. Other resting state networks are currently under analysis and will be described in the near future.

In this exploratory study the total DMN functional connectivity searched by ICA was found preserved in crack-cocaine dependents in abstinence for at least four weeks when compared to age-matched non-addicted controls. However, the superior parietal lobe was found to be negatively related to the vACC in a greater extent in crack-cocaine

users when a single metric functional connectivity through the seed-based correlation analysis was performed. These results suggest that DMN was intrinsically unaffected but a restricted functional connectivity with a region extrinsically related to the DMN may be compromised in crack-cocaine addiction.

Acknowledgments

We want to thank patients who agreed to participate in this study. We also want to thank Dr. Luis Henrique Casagrande, who allowed us to run this study in patients from the Clinic for Treatment of Mental Disorders and Drug Dependence, to use its facilities, and made all effort to help us; to Elton Francisco Pavan Batista who helped to receive and to conduct subjects to the resonance magnetic acquisition; and to José Luiz Aranda who was the technic responsible for imaging acquisition and the technical team from resonance magnetic clinics that gave all support needed for the subjects conduction for data acquisition. This work was partly supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (grants numbers 475232/2013-5; 443824/2014-2 and 466650/2014-0 to E.M.N.P.). E.M.N.P. is recipient of researcher fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (proc. 304374/2014-8).

Registration

This study partially belongs to a project registered in the ClinicalTrials.gov under the identifier NCT02091167.

Contributors

DLNM was responsible for organizing the recruitment, the brief clinical evaluation, and the conduction of subjects (patients and controls) to the resonance imaging centers.

TDSV, JDA, LFF and PRB were responsible for the pre and post-processing of rs-fMRI data. PRB also assisted with data analysis and interpretation of findings. JK and EKB were responsible for the recruitment, the full clinical examination, the treatment and the follow-up of addicted patients included in the study. RSM was responsible to provide the access to the resonance imaging clinics where all data acquisition was realized.

EMNP was responsible for the concept and design of the study, the data analysis and interpretation of findings, for the writing the manuscript and to give important intellectual content to it. All authors critically reviewed the content and approved the final version for publication.

Conflict of Interest

All authors report no conflicts of interest.

References

- Batista, E.K., Klauss, J., Fregni, F., Nitsche, M.A., Nakamura-Palacios, E.M., 2015. A Randomized Placebo-Controlled Trial of Targeted Prefrontal Cortex Modulation with Bilateral tDCS in Patients with Crack-Cocaine Dependence. *Int J Neuropsychopharmacol* 18.
- Beckmann, C.F., 2012. Modelling with independent components. *Neuroimage* 62, 891-901.
- Beckmann, C.F., Smith, S.M., 2004. Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Trans Med Imaging* 23, 137-152.
- Boly, M., Tshibanda, L., Vanhaudenhuyse, A., Noirhomme, Q., Schnakers, C., Ledoux, D., Boveroux, P., Garweg, C., Lambermont, B., Phillips, C., Luxen, A., Moonen, G., Bassetti, C., Maquet, P., Laureys, S., 2009. Functional connectivity in the default network during resting state is preserved in a vegetative but not in a brain dead patient. *Hum Brain Mapp* 30, 2393-2400.
- Boveroux, P., Bonhomme, V., Boly, M., Vanhaudenhuyse, A., Maquet, P., Laureys, S., 2008. Brain function in physiologically, pharmacologically, and pathologically altered states of consciousness. *Int Anesthesiol Clin* 46, 131-146.
- Brodmann, K., Gary, L.J., 2006. Brodmann's localization in the cerebral cortex : the principles of comparative localisation in the cerebral cortex based on cytoarchitectonics. Springer, New York, NY.
- Buckner, R.L., Vincent, J.L., 2007. Unrest at rest: default activity and spontaneous network correlations. *Neuroimage* 37, 1091-1096; discussion 1097-1099.
- Camchong, J., MacDonald, A.W., 3rd, Nelson, B., Bell, C., Mueller, B.A., Specker, S., Lim, K.O., 2011. Frontal hyperconnectivity related to discounting and reversal learning in cocaine subjects. *Biol Psychiatry* 69, 1117-1123.
- Cole, D.M., Smith, S.M., Beckmann, C.F., 2010. Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state FMRI data. *Frontiers in systems neuroscience* 4, 8.
- Ding, X., Lee, S.W., 2013. Cocaine addiction related reproducible brain regions of abnormal default-mode network functional connectivity: a group ICA study with different model orders. *Neurosci Lett* 548, 110-114.
- Duailibi, L.B., Ribeiro, M., Laranjeira, R., 2008. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad Saude Publica* 24 Suppl 4, s545-557.
- Dunn, J., Laranjeira, R.R., Da Silveira, D.X., Formigoni, M.L., Ferri, C.P., 1996. Crack cocaine: an increase in use among patients attending clinics in Sao Paulo: 1990-1993. *Subst Use Misuse* 31, 519-527.
- Fein, G., Di Sclafani, V., Meyerhoff, D.J., 2002. Prefrontal cortical volume reduction associated with frontal cortex function deficit in 6-week abstinent crack-cocaine dependent men. *Drug Alcohol Depend* 68, 87-93.
- Fischer, B., Blanken, P., Da Silveira, D., Gallassi, A., Goldner, E.M., Rehm, J., Tyndall, M., Wood, E., 2015. Effectiveness of secondary prevention and treatment interventions for crack-cocaine abuse: A comprehensive narrative overview of English-language studies. *The International journal on drug policy* 26, 352-363.
- Goldstein, R.Z., Volkow, N.D., 2011. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci* 12, 652-669.
- Greicius, M.D., Kiviniemi, V., Tervonen, O., Vainionpaa, V., Alahuhta, S., Reiss, A.L., Menon, V., 2008. Persistent default-mode network connectivity during light sedation. *Hum Brain Mapp* 29, 839-847.
- Greicius, M.D., Krasnow, B., Reiss, A.L., Menon, V., 2003. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 253-258.

- Gu, H., Salmeron, B.J., Ross, T.J., Geng, X., Zhan, W., Stein, E.A., Yang, Y., 2010. Mesocorticolimbic circuits are impaired in chronic cocaine users as demonstrated by resting-state functional connectivity. *Neuroimage* 53, 593-601.
- Joel, S.E., Caffo, B.S., van Zijl, P.C., Pekar, J.J., 2011. On the relationship between seed-based and ICA-based measures of functional connectivity. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 66, 644-657.
- Kelly, C., Zuo, X.N., Gotimer, K., Cox, C.L., Lynch, L., Brock, D., Imperati, D., Garavan, H., Rotrosen, J., Castellanos, F.X., Milham, M.P., 2011. Reduced interhemispheric resting state functional connectivity in cocaine addiction. *Biol Psychiatry* 69, 684-692.
- Koenigs, M., Barbey, A.K., Postle, B.R., Grafman, J., 2009. Superior parietal cortex is critical for the manipulation of information in working memory. *J Neurosci* 29, 14980-14986.
- Koob, G.F., Volkow, N.D., 2010. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35, 217-238.
- Liang, X., He, Y., Salmeron, B.J., Gu, H., Stein, E.A., Yang, Y., 2015. Interactions between the salience and default-mode networks are disrupted in cocaine addiction. *J Neurosci* 35, 8081-8090.
- Ma, N., Liu, Y., Fu, X.M., Li, N., Wang, C.X., Zhang, H., Qian, R.B., Xu, H.S., Hu, X., Zhang, D.R., 2011. Abnormal brain default-mode network functional connectivity in drug addicts. *PLoS One* 6, e16560.
- Nappo, S.A., Sanchez, Z., De Oliveira, L.G., 2011. Crack, AIDS, and women in Sao Paulo, Brazil. *Subst Use Misuse* 46, 476-485.
- Raichle, M.E., 2015a. The brain's default mode network. *Annu Rev Neurosci* 38, 433-447.
- Raichle, M.E., 2015b. The restless brain: how intrinsic activity organizes brain function. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 370.
- Raichle, M.E., MacLeod, A.M., Snyder, A.Z., Powers, W.J., Gusnard, D.A., Shulman, G.L., 2001. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 676-682.
- Raichle, M.E., Snyder, A.Z., 2007. A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea. *Neuroimage* 37, 1083-1090; discussion 1097-1089.
- Rosazza, C., Minati, L., 2011. Resting-state brain networks: literature review and clinical applications. *Neurol Sci* 32, 773-785.
- Rytty, R., Nikkinen, J., Paavola, L., Abou Elseoud, A., Moilanen, V., Visuri, A., Tervonen, O., Renton, A.E., Traynor, B.J., Kiviniemi, V., Remes, A.M., 2013. GroupICA dual regression analysis of resting state networks in a behavioral variant of frontotemporal dementia. *Front Hum Neurosci* 7, 461.
- Smith, D.V., Utevsky, A.V., Bland, A.R., Clement, N., Clithero, J.A., Harsch, A.E., McKell Carter, R., Huettel, S.A., 2014. Characterizing individual differences in functional connectivity using dual-regression and seed-based approaches. *Neuroimage* 95, 1-12.
- Sutherland, M.T., McHugh, M.J., Pariyadath, V., Stein, E.A., 2012. Resting state functional connectivity in addiction: Lessons learned and a road ahead. *Neuroimage* 62, 2281-2295.
- Vanhaudenhuyse, A., Noirhomme, Q., Tshibanda, L.J., Bruno, M.A., Boveroux, P., Schnakers, C., Soddu, A., Perlberg, V., Ledoux, D., Brichant, J.F., Moonen, G., Maquet, P., Greicius, M.D., Laureys, S., Boly, M., 2010. Default network connectivity reflects the level of consciousness in non-communicative brain-damaged patients. *Brain* 133, 161-171.
- Viola, T.W., Tractenberg, S.G., Levandowski, M.L., Pezzi, J.C., Bauer, M.E., Teixeira, A.L., Grassi-Oliveira, R., 2014. Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress. *J Psychiatry Neurosci* 39, 206-214.
- Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., Tomasi, D., 2012. Addiction circuitry in the human brain. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 52, 321-336.

Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., Tomasi, D., Telang, F., Baler, R., 2010. Addiction: decreased reward sensitivity and increased expectation sensitivity conspire to overwhelm the brain's control circuit. *Bioessays* 32, 748-755.

Yur'yev, A., Akerele, E., 2015. Socio-demographic Characteristics of Individuals with History of Crack Cocaine Use in the US General Population. *Community Ment Health J.*

Zaparte, A., Viola, T.W., Grassi-Oliveira, R., da Silva Morrone, M., Moreira, J.C., Bauer, M.E., 2015. Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)* 232, 1405-1413.

Figure Captions

Figure 1 – Diagram of data analytical path. BET = Brain Extraction; MELODIC = Multivariate Exploratory Linear Decomposition into Independent Components; ICA = Independent Component Analysis; ROI = Region Of Interest; vACC = ventral Anterior Cingulate Cortex; PCC = Posterior Cingulate Cortex; GLM = General Linear Model.

Figure 2 – Functional connectivity determined by seed-based correlation analysis centering regions of interest of a 8-mm diameter circle (depicted in green) in (A) the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC: $x = 2, y = 38, z = -2$) and in (B) the Posterior Cingulate Cortex (PCC: $x = 2, y = -51, z = 27$) considering the coordinates used by Greicius et al (2003), on functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) data acquired in resting state in scanners of 1.5 T in crack-cocaine users and age-matched non-addicted controls. Red/Yellow = positive correlation; Blue/light blue = negative correlation; A = Anterior; P = Posterior; R = Right; L = Left.

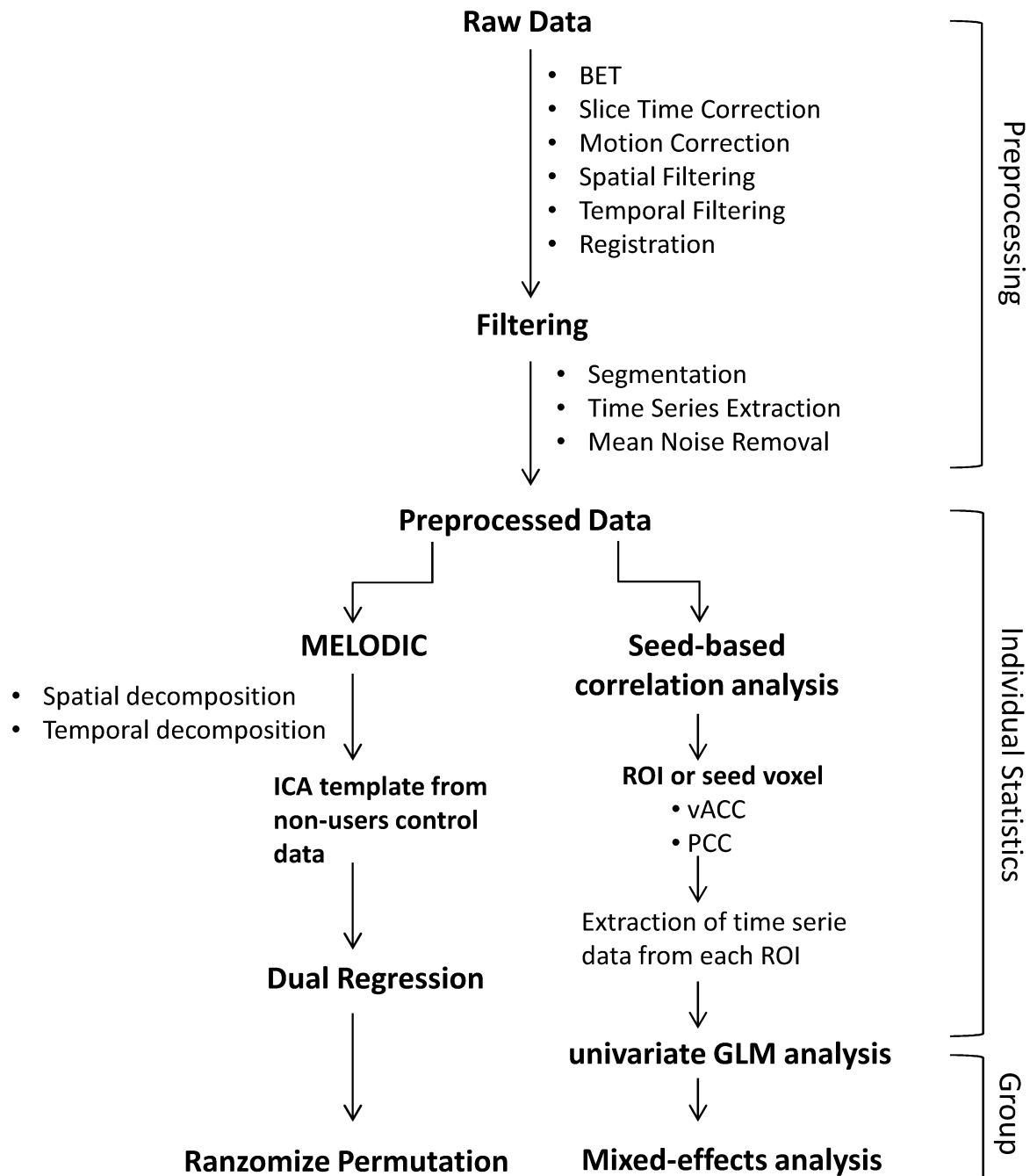
Figure 3 – Differences between crack-cocaine users and age-matched non-addicted controls on the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC: $x = 2, y = 38, z = -2$) negative correlation with the region ($x = -32, y = -38, z = 60$) corresponding to the left superior parietal lobe (Brodmann area 5). The negativity was greater ($p < 0.0322$) in the crack-cocaine users when compared to the non-addicted control group. Blue/light blue = negative correlation; A = Anterior; P = Posterior; R = Right; L = Left.

Table 1 – Socio-demographic characteristics and patterns of crack-cocaine use in a sample of male drug users, in abstinence for at least 4 weeks, that underwent to resting state functional Magnetic Resonance Imaging (rs-fMRI) in a 1.5 T scanner ($n = 8$) compared to male age-matched non-addicted controls that also underwent to rs-fMRI ($n = 8$).

		Non-addicted controls	Crack-cocaine users		<i>p value</i>
Age [mean (SD)]		31.4 (7.0)	29.1 (10.6)	<i>t</i> (14) = 0.50	0.62
Years of education [mean (SD)]		12.7 (3.3)	1.9 (0.8)	<i>t</i> (13) = 9.14	<0.0001
Employment situation <i>n</i> (%)	Formal job	6 (75%)	0 (0%)	<i>X</i> ₂ = 14	0.016
	Informal job	1 (12.5%)	0 (0%)		
	Unemployed	0 (0%)	4 (50%)		
	Freelance	0 (0%)	2 (25%)		
	Disease benefit	0 (0%)	1 (12.5%)		
	Not reported	1 (12.5%)	1 (12.5%)		
Marital state <i>n</i> (%)	Single	5 (62.5%)	6 (75%)	<i>X</i> ₂ = 2.09	0.35
	Married	3 (37.5%)	1 (12.5%)		
	Divorced	0 (0%)	1 (12.5%)		
Tobacco use <i>n</i> (%)	Yes	0 (0%)	5 (62.5%)	<i>Fisher</i>	0.013
	No	8 (100%)	3 (37.5%)		
Crack-cocaine use					
Age at onset of crack-cocaine use [mean (SD)]			22.6 (8.9)		
Amount of crack-cocaine used (rocks/day) [mean (SD)]			14.8 (16.2)		

Table 2 – Regions positively related to Regions of Interest (ROIs) of 8 mm diameter placed in the ventral Anterior Cingulate Cortex (vACC: x = 2, y = 38, z = -2) and Posterior Cingulate Cortex (PCC: x = 2, y = -51, z = 27) considering the coordinates used by Greicius et al (2003) in crack-cocaine users ($n = 8$) compared to age-matched non-users controls ($n = 8$).

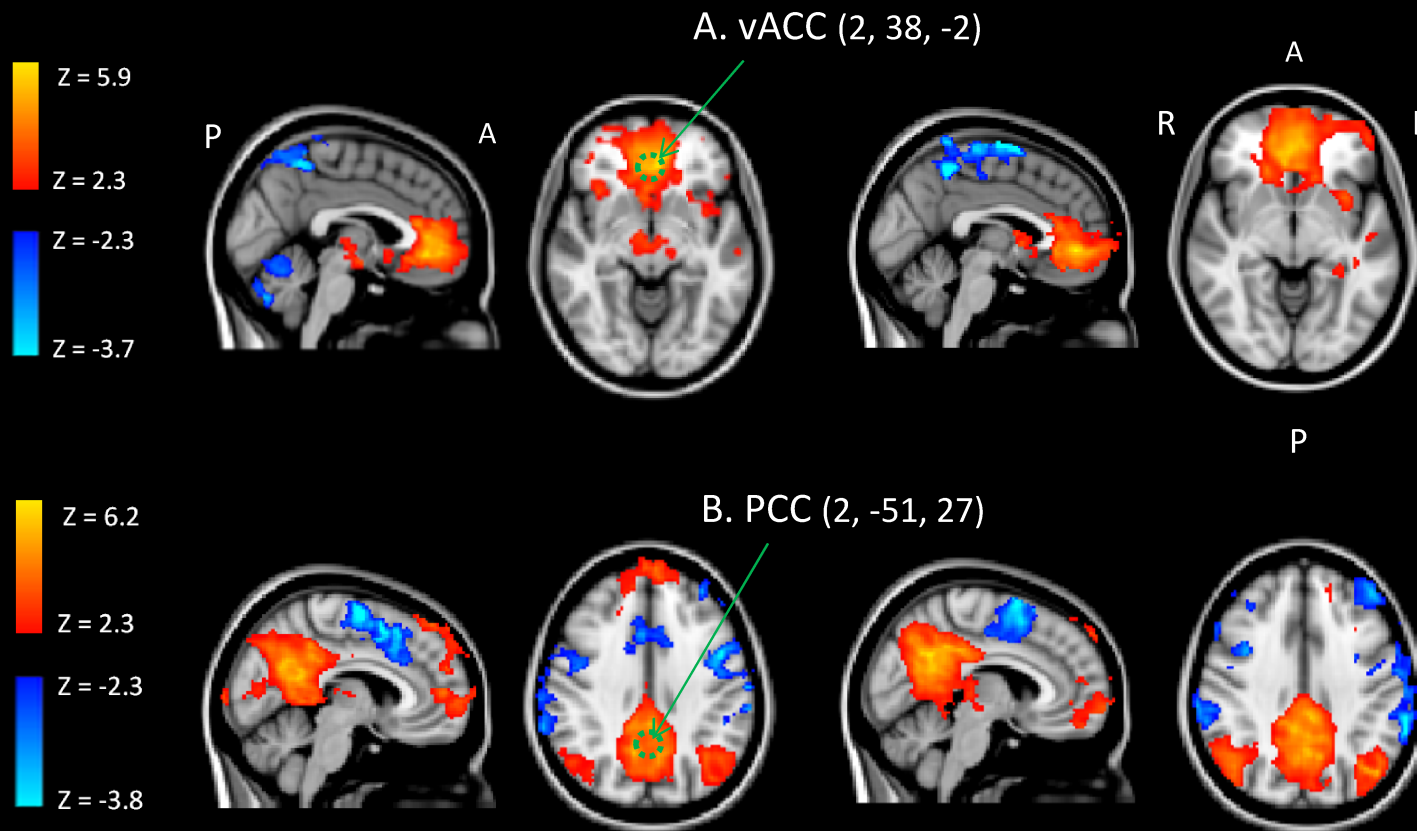
Scanner 1.5 T						Talairach's coordinates			Brodmann's area (Region)
ROIs	Group	Cluste r	Voxels	p	Max Z	X	Y	Z	
vACC	<i>Control</i>	1	966	0.00152	3.89	-56	-12	-16	21 (Left Middle Temporal Gyrus)
		2	7058	1.64×10^{-16}	5.61	-6	40	-8	10 (Left Medial Frontal Gyrus)
	<i>Crack-cocaine</i>	1	998	0.0012	3.87	-48	-2	-26	20 (Left Inferior Temporal Gyrus)
		2	8499	7.68×10^{-19}	5.97	2	44	-4	32 (Right Dorsal Anterior Cingulate)
PCC	<i>Control</i>	1	675	0.0268	4.39	56	0	-22	21 (Right Middle Temporal Gyrus)
		2	1166	0.000885	4.27	-8	66	6	10 (Left Superior Frontal Gyrus)
		3	2781	1.19×10^{-7}	4.39	30	28	58	6 (Right Middle Frontal Gyrus)
		4	13250	1.63×10^{-23}	5.95	-4	-52	28	31 (Left Dorsal Posterior Cingulate)
	<i>Crack-cocaine</i>	1	1043	0.00197	4.26	68	-2	-10	21 (Right Middle Temporal Gyrus)
		2	1532	9.45×10^{-5}	4.77	0	64	4	10 (Left Medial Frontal Gyrus)
		3	1645	4.92×10^{-5}	5.61	-46	-70	34	39 (Left Angular Gyrus)
		4	1824	1.8×10^{-5}	4.11	-36	22	52	8 (Left Superior Frontal Gyrus)
		5	15337	4.92×10^{-26}	6.26	-2	-52	24	31 (Left Dorsal Posterior Cingulate)



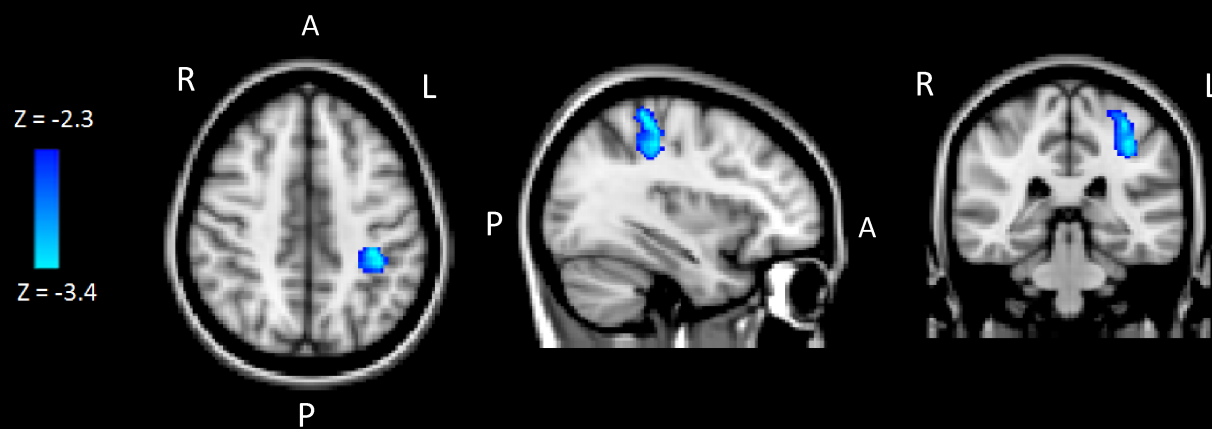
1.5 T

Controls (n = 8)

Crack-users (n = 8)



Crack-users < Control ($p < 0.0322$)



Brodman's area 5 - Superior Parietal Lobe